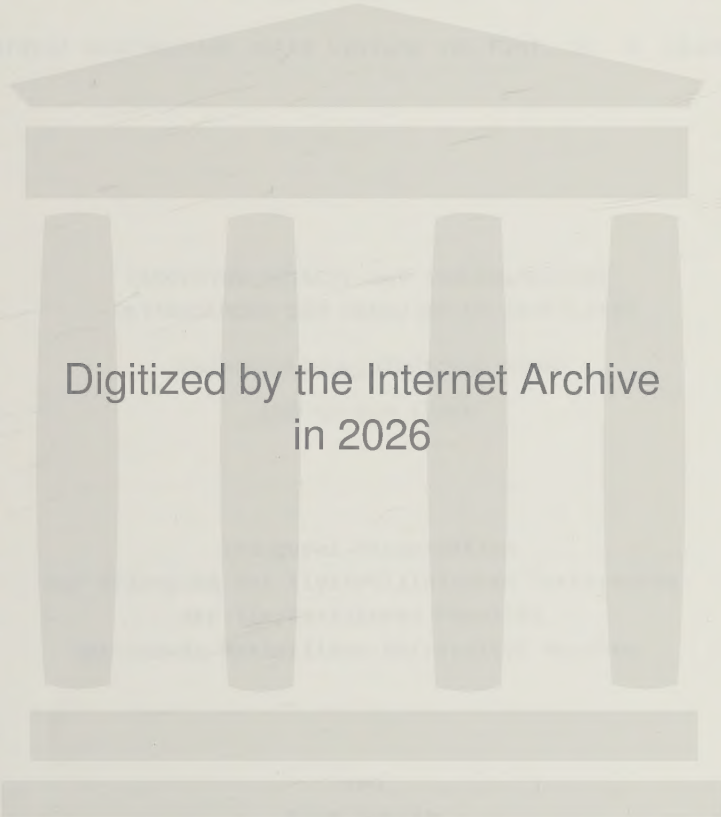


ENDOKRINOLOGISCHE UND IMMUNOLOGISCHE
UNTERSUCHUNG DER REDUZIERTEN
FERTILITÄT DYSGAMMAGLOBULINÄMISCHER
HÄHNE DER UM B19 LINIE

ELKE SCHULZ

1985

*Diss
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. U. Lösch

ENDOKRINOLOGISCHE UND IMMUNOLOGISCHE
UNTERSUCHUNG DER REDUZIERTEN FERTILITÄT

DYSGAMMAGLOBULINÄMISCHER HÄHNE
DER UM B19 LINIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Elke Schulz

aus
Sternberg 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. U. Lösch

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. H. Gerlach

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

<u>Inhaltsverzeichnis:</u>	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
2. Literatur	4
2.1. Keimdrüsenhormone	4
2.1.1. Wirkung während der sexuellen Differenzierungsphase	4
2.1.1.1. Ausbildung der Gonaden	4
2.1.1.2. Entwicklung des Sexual- und Erotisierungszentrums	6
2.1.1.3. Faktoren in der Ätiopathologie hypothalamischer Differenzierungsstörungen	8
2.1.1.4. Einfluß unphysiologischer Hormonkonzentrationen in der Differenzierungsphase beim genetisch männlichen Tier	9
2.1.2. Wirkung bei präpuberalen und adulten Hähnen	10
2.1.2.1. Hormonspiegel, Keimdrüsengewicht und Stadien der Spermatogenese während der sexuellen Entwicklungsphase beim Hahn	10
2.1.2.2. Sexualverhalten	13
2.1.2.3. Plasma-Eiweißbindung als Parameter für die biologische Wirksamkeit	16
2.1.3. Regulation der Keimdrüsenfunktion	17
2.1.3.1. Die Leydigzellen	17
2.1.3.2. Die Sertolizellen	19
2.1.3.3. Die Spermatogenesezellen	23
2.2. Immunologie	24
2.2.1. Autoimmunreaktion männlicher Gonaden	24
2.2.1.1. Schutzeinrichtungen: Aufbau der Blut-Hoden-Schranke und Abwehrzellen	24

	<u>Seite</u>
2.2.1.2. Antigenität	29
2.2.1.3. Humorale Immunität	31
2.2.1.4. Ätiologie der Autoimmunreaktion	33
 3. Material und Methode	 35
3.1. Tiermaterial	35
3.1.1. Tiere	35
3.1.2. Haltung	35
3.1.3. Serum	35
3.2. Hormonbestimmung	36
3.2.1. Testosteron und Östrogen	36
3.2.2. LH	36
3.2.3. Testosteron- und LH-Tagesverlauf	37
3.3. Testosteronsubstitution	37
3.3.1. Verhalten	37
3.3.2. Testosteron- bzw. Ölinjektion	38
3.4. Plasma-Eiweiß-Bindung des Testosterons	38
3.4.1. Äquilibriumsdialyse	38
3.5. Antikörperrnachweis	40
3.5.1. Spermagewinnung	40
3.5.2. Immunisierung von Kaninchen gegen Hühnersperma	 40
3.5.3. Gelatine Agglutinations-Methode	41
3.5.4. Mixed antiglobuline reaction (MAR)	41
3.5.5. Perfusion der Hoden	43
3.5.6. Präparation von Hodenextrakt	44
3.5.7. Rocket Immunelektrophorese	44
 4. Ergebnisse	 45
4.1. Serum-Testosteron-Spiegel	45
4.1.1. Diurnaler Serum-Testosteron-Spiegel von sich in Paarung befindenden dys- gammaglobulinämischen Hähnen	 45

	<u>Seite</u>
4.1.2. Vergleich des Serum-Testosteron-Spiegel dysgammaglobulinämischen Hähne in Paarung mit dem nach mehrtägiger sexueller Inaktivität	48
4.1.3. Serum-Testosteronwerte dysgammaglobulinämischer Hähne verschiedener Altersstufen	50
4.1.4. Diurnaler Serum-Testosteron-Spiegel von Hähnen der HNL Linie, die sich nicht in Paarung befinden	52
4.2. Serum-Östrogen-Konzentration bei dysgammaglobulinämischen Hähnen	54
4.3. Gegenüberstellung der Östrogen- und Testosteron-Konzentrationen im Serum dysgammaglobulinämischer Hähne	55
4.4. Östrogen- und Testosteron-Konzentration im Serum von dysgammaglobulinämischer und HNL-Hennen	58
4.5. Diurnaler Serum-LH-Spiegel präpuberaler dysgammaglobulinämischer Hähne	60
4.6. Einfluß parenteraler Testosterongaben auf das Paarungsverhalten	62
4.7. Plasmaeiweißbindung des Testosterons	66
4.8. Nachweis von Autoantikörpern	67
4.8.1. Gemischte Antiglobulin-Reaktion (Mixed antiglobuline reaktion)	67
4.8.2. Gelatine-Agglutinations-Test (GAT)	68
4.9. Nachweis von Autoantikörpern im Hodengewebe	70

	<u>Seite</u>
5. Diskussion	72
6. Zusammenfassung	88
7. Summary	91
8. Literaturverzeichnis	93

1. Einleitung

Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind die Hähne der UM Bl9 Linie, die seit 1965 an der Universität München gezüchtet werden. Diese Tiere zeichnen sich sowohl durch eine Dysgammaglobulinämie als auch durch eine reduzierte Fertilitätsrate aus.

In der vorausgegangenen Arbeit von Hanneschläger (1984) wurde bereits versucht, die Ursache für das niedrige Befruchtungsergebnis zu charakterisieren. Ein wichtiger Befund war, daß dysgammaglobulinämische Hähne Hennen teilweise nicht beachten bzw. das Paarungsverhalten nur unvollständig, d. h. ohne Kloakenkontakt ausführen. Durch künstliche Besamung konnte die Befruchtungsrate von 21,8 % auf 36,7 % gesteigert werden, sie liegt aber noch unter dem von der Literatur angegebenen Normbereich.

Die Untersuchung der Gonaden und des Spermas erbrachte, daß sowohl ein Hypogonadismus als auch eine Hypozoospermie vorliegen. Beide stehen jedoch nicht miteinander in Verbindung, da Hähne mit niedrigem Hodengewicht eine relativ hohe mittlere Spermiendichte besitzen.

Die Bestimmung der endokrinen Funktion von Gonaden, Hypothalamus und Hypophyse erbrachten nähere Aufschlüsse: Bei physiologischem LH-Spiegel war die im Tagesverlauf gemessene Serum-Testosteron-Konzentration erniedrigt. Luteinisierungshormon-Releaserhormon(LH-RH)-Gaben bewirkten eine Steigerung der Spermadichte gegenüber dem Ausgangswert auf bis zu 1625 % bzw. des Serum-Testosteron-Spiegels auf maximal 84 %. Die Fähigkeit des Hypophysenvorderlappens auf Releasinhormone zu reagieren bzw. der Leydigzellen Testosteron zu produzieren war somit gesichert. Da LH-RH auch die Ausschüttung des

follikelstimulierenden Hormons (FSH) induziert, ist fraglich, ob die erhöhte Spermiedichte das Resultat eines höheren Testosteron-Spiegels im Serum gewesen ist, oder durch die gesteigerte Bildung des Androgen-binding-Proteins verursacht wird.

In der vorgelegten Arbeit wurde versucht, über weitere Hormonbestimmungen das Wissen um den endokrinen Status der dysgammaglobulinämischen Hähne zu erweitern. Da - wie bereits erwähnt - bei diesen Tieren ein erniedrigter Serum-Testosteron-Spiegel nachgewiesen wurde, sollte durch die Messung der Testosteron-Konzentration während verschiedener Altersstufen die Entwicklung der Gonadenfunktion untersucht bzw. der Beginn der mangelnden Hormonproduktion herausgefunden werden. Die Bestimmung der Serum-LH-Werte bei präpuberalen Hähnen sollte dabei Aufschluß über eine hypophysär bedingte Ursache geben. Gleichzeitig sollte damit abgeklärt werden, ob der Hypogonadismus aus einer unzureichenden Gonadotropinausschüttung während der Wachstumsphase der Gonaden resultiert. Die Fähigkeit des Hypothalamus und der Hypophyse, auf Paarungsreize anzusprechen, und - wie bei anderen Tierarten - mit verstärkter LH-Ausschüttung und somit erhöhter Testosteron-Synthese zu antworten, sollte durch die Messung des Testosteron-Spiegels im Serum sexuell aktiver Hähne überprüft werden. Über die Bestimmung des Serum-Östrogen-Gehaltes soll die Fähigkeit der Hoden Testosteron in Östrogen umzuwandeln und das Ausmaß dieser Hormonproduktion nachgewiesen werden. Weiterhin sollte das reduzierte Paarungsverhalten näher charakterisiert und durch einen Testosteron-Therapieversuch behoben werden. Um zudem herauszufinden, ob dem Sexualzentrum genügend freies Testosteron zur Verfügung steht, soll dessen Bindung an das Plasma-Eiweiß ermittelt werden, da Tiere mit einem fehlerhaften Immunsystem häufig

immunkrankheiten ausbilden, wurde diese Möglichkeit als Ursache des Hypogonadismus und der Hypozoospermie in Betracht gezogen, und sowohl das Hodengewebe als auch das Sperma auf Autoantikörper hin untersucht.

2. Literatur

2.1 Keimdrüsenhormone

2.1.1 Wirkung während der sexuellen Differenzierungsphase

2.1.1.1 Ausbildung der Gonaden

Der Organismus ist zu Beginn seiner Entwicklung sexuell bipotentiell angelegt. Durch die genetische Determination wird das jeweilige Geschlecht ausgebildet.

Bei Vögeln ist das weibliche Tier heterogametisch (ZW), das männliche homogametisch (ZZ). Eine an das W-Chromosom gebundene Plasmamembran Komponente, serologisch wahrscheinlich ein Antigen (Döcke, 1981; Ohno, 1977), induziert beim Geflügel während einer bestimmten Zeitspanne die Ausbildung des Ovars. Das gonadale Geschlecht wird also hier durch die Eizelle festgelegt.

An der undifferenzierten Gonade unterscheidet man Kortex und Medulla, wobei sich beim genetisch weiblichen Tier die kortikale, beim genetisch männlichen Tier die medulläre Partie entwickelt (Dörner, 1972). Beim weiblichen Huhn entwickeln sich trotz einer paarigen Anlage des Ovars nur der linke Eierstock und Eileiter, während die rechtsseitigen Genitalorgane rudimentär bleiben.

Über die genauere Entwicklung der Hoden gibt Gondos (1980) eine Zusammenfassung:

Vom Oberflächenepithel und von den mesonephrischen Tubuli ausgehend beginnen Zellen zu proliferieren, mischen sich mit den Germinativzellen im gonadalen Parenchym, und formen dadurch strangartige Gebilde. Die

benachbarten Membranen der beiden Zelltypen liegen direkt aneinander und bilden Verbindungen aus. Eine Basalmembran trennt die Stränge von dem sie umgebenden Mesenchym, und eine Mesenchymzellenschicht, die Tunica albuginea, von dem darüber liegenden Epithel. Nach dieser Differenzierung erscheinen Leydigzellen, die die Germinativ-Sertolizell-Aggregate trennen. Die Testosteronproduktion setzt sich für eine bestimmte Zeit fort; ihr folgt eine Regressionsphase der Leydigzellen mit daraus resultierender Abnahme der Androgenproduktion (Gondos, 1980). Beim Hühnerembryo ist der Testosterongehalt der Hoden am 17. Tag der Embryogenese sehr niedrig (2,8 pg/mg) und steigt bis zum 20. Tag auf 13,5 pg/mg. Der Plasmatestosteronspiegel ist dagegen relativ hoch mit 137,9 pg/ml am 17. und 215,8 pg/mg am 20. Embryonaltag. Es scheint, daß die Nebennierenrinde eine wichtigere Rolle in der Androgenproduktion des Embryos einnimmt als der Hoden, da hier am 17. Tag 305,9 pg/mg und am 20. Tag 279,8 pg/mg gemessen werden konnten (Tanabe et al., 1979).

Das gonadale Geschlecht wird auch durch die Gonadenhormone selbst beeinflusst, d.h. wird männlichen Hühnerembryonen Östrogen injiziert, entwickelt sich links ein Ovar und rechts ein rudimentärer Hoden. Bald nach dem Schlupf bildet sich links ein Ovotestis und rechts ein normaler Hoden aus (Knight und Taber, 1977, zitiert nach Döcke, 1981). Männliche Hühnerembryonen wurden am 7. oder 11. Tag der Embryogenese mit einer einzigen Dosis Östradiolpropionat (1000 µg) behandelt und deren Hoden im Alter von 2,5 oder 6 Monaten untersucht. Beide Gruppen zeigten eine Verzögerung des testikulären Wachstums, der Entwicklung der Tubuli seminiferi und der Spermatogenese (Kosanovic et al., 1979).

Haynes und Glick (1974) verabreichten männlichen Hühnerembryonen am 3. Tag der Embryogenese Testosteronpropionat. 14 Wochen nach dem Schlupf wurden die Hoden dieser Tiere histologisch untersucht: Die Spermatogenese war reduziert, die Vasa deferentia waren klein und beinhalten keine Spermatozoen. Das Gewicht der Hoden betrug ca. 1/4 des Hodengewichts altersgleicher Kontrollhähne. Die Hoden von 54 Wochen alten TP-Hähnen zeigten dagegen ein normales histologisches Bild und intakte Spermatogenese.

2.1.1.2 Entwicklung des Sexual- bzw. Erotisierungszentrums

Die hypothalamischen Kerngebiete, die die Gonadotropinausschüttung und das Sexualverhalten kontrollieren, bezeichnet man als "Sexual"- bzw. "Erotisierungszentren". Genauer konnte dieses Gebiet durch Crawford und Glick (1975) lokalisiert werden. Sie stellten fest, daß durch das Tauchen von Hühnereiern in eine Testosteronpropionatlösung der Nucleus praeopticus magnocellularis beeinflußt wird, was dann zu einem fehlenden Paarungsverhalten führt.

In vitro Versuche von Toran-Allerbrand (1976) an neugeborenen Mäusen lassen die Vermutung zu, daß die geschlechtsspezifische Funktion des Hypothalamus nicht von vorneherein im Nervensystem verankert ist, sondern eine aktive Induktion durch Sexualsteroiden benötigt. Diese verursachen eine unterschiedliche räumliche und zeitliche Entwicklung des Axonwachstums, wodurch wiederum die Dendritendifferenzierung und die Synapsenverteilung beeinflußt wird. Es resultiert eine fundamental unterschiedliche geschlechtsspezifische neurale Organisation.

Martínez-Vargas et al. (1975) bewiesen zudem beim 10 Tage alten Hühnerembryo durch Autoradiographie die Existenz von Östradiolrezeptoren.

Die Ausbildung dieser hypothalamische Zentren benötigt einen für jede Tierart unterschiedlichen Zeitraum, und ist nach Wilson und Glick (1970) beim Huhn am 13. Tag der Embryonalentwicklung abgeschlossen.

Jedoch scheinen nicht die Steroide selbst, sondern ihre durch Enzymreaktionen umgewandelten Produkte bei der sexuellen Differenzierung wirksam zu sein (Martini, 1978). So konnte beim Geflügel ein α - und β -Reduktasesystem nachgewiesen werden, das Testosteron zu Dihydrotestosteron und Androstandion umwandelt (Massa et al., 1977).

Untersuchungen an Ratten zeigten, daß die Androgenwirkung schließlich über Neurotransmitter erfolgt: Nach Dörner (1976) resultiert eine Veränderung der Neurotransmitterkonzentration, bzw. deren turnover-Rate während der sexuellen Differenzierungsphase in einem veränderten Sexualverhalten: Die neonatale Verabreichung eines Acetylcholininhibitors bewirkt speziell bei männlichen Ratten, daß die Pubertät zu früh einsetzt und die sexuelle Aktivität stetig ansteigt, die Inhibition der Mono-Amino-Oxidase (MAO)-Aktivität führt dagegen zu einer verspäteten Pubertät und permanenter Abnahme der Sexualaktivität (Dörner, 1976).

Stumpf und Sar (1978) vermuten, daß die Anwesenheit von Sexualhormonen zum Zeitpunkt der Differenzierung einen Effekt auf die gesamte Hormonbindungskapazität des Hypothalamus hat.

Wirken während der Differenzierungsphase Androgene auf den Hypothalamus ein, wird unabhängig vom genetischen und gonadalen Geschlecht der männliche, d.h. tonische Typ der Gonadotropinsekretion ausgebildet, fehlt ein Androgeneinfluß, kommt es zur Ausbildung der weiblichen, d.h. zyklischen Gonadotropinausschüttung (Harris, 1964).

Mäuse, die am 1. Tag post partum kastriert wurden, zeigen ein bisexuelles Verhalten: nach Östrogen- und Progesteronverabreichung ist beim adulten Tier weibliches, nach Testosterongaben jedoch unvollständiges männliches Paarungsverhalten zu beobachten (Harris, 1964).

Nach Dörner (1972) sind diese Kastraten auch homosexuell: Diese Verhaltensweise kann jedoch durch eine einzige Testosteroninjektion zur Zeit der sexuellen Differenzierungsphase, d. h. sofort nach der Geburt verhindert werden. Eine neuroendokrine Prädisposition für hypo-, bi- und homosexuelles Verhalten liegt wahrscheinlich an unterschiedlichen Graden eines Androgenmangels während der sexuellen Differenzierungsphase (Dörner, 1972).

2.1.1.3 Mögliche Faktoren in der Ätiopathogenese hypothalamischer Differenzierungsstörungen

Nach Dörner (1972) gibt es drei verschiedenen Ursachen für eine unzureichende Differenzierung der hypothalamischen "Sexual-" bzw. "Erotisierungszentren":

1. Eine Störung der fetalen Keimdrüsen oder der Nebennierenrinde (NNR), bzw. des fetalen Steroidmetabolismus: z.B. genetisch bedingte Enzymschäden:
 - Ein 3- β -Hydroxysteroiddehydrogenasemangel resultiert in einer ungenügenden Testosteronproduktion (Bongiovanni und Root, 1963).

- Hydroxylasemangel führt zu mangelhafter Glukokortikoidsynthese und somit zu einer NNR-Hyperplasie. Hierdurch wird gleichzeitig die Androgen- und Östrogenproduktion gesteigert (Grychtolik et al, 1971).
- 2. Eine evtl. genetisch bedingte ungenügende Ansprechbarkeit des Hypothalamus auf physiologische Testosteronkonzentrationen.
- 3. Veränderungen im Sexualhormonspiegel des Muttertieres.

2.1.1.4 Einfluß unphysiologischer Hormonkonzentrationen in der Differenzierungsphase beim genetisch männlichen Tier

Nach Dörner (1972) ist die Androgenkonzentration in der Differenzierungsphase ausschlaggebend für die Art und Weise der Gonadotropinausschüttung und für das Sexualverhalten beim adulten Tier:

Androgenkonzentration:

- niedrig: - Organisation der Sexualzentren zyklisch, der Erotisierungszentren vorwiegend weiblich
- Hypothalamus-, HVL-, Gonadenfunktion annähernd normal (potentiell zyklisch)
- Sexualverhalten hypo-, bi- oder homosexuell

- mittel hoch: - Organisation der Sexualzentren tonisch, der Erotisierungszentren vorwiegend männlich
- Hypothalamus-HVL-Gonadenfunktion acyklisch (=tonisch)
- Sexualverhalten männlich

- sehr hoch: - Organisation der Sexualzentren tonisch und gehemmt, der Erotisierungszentren männlich

- Hypothalamus-HVL-Gonadenfunktion:
hypogonadotroper Hypogonadismus
- Sexualverhalten hypo- oder asexuell

2.1.2. Wirkung bei präpuberalen und adulten Hähnen

2.1.2.1 Hormonspiegel, Keimdrüsengewicht und Stadien der Spermatogenese während der sexuellen Entwicklungsphase beim Hahn

- Testikuläre Androgene:

Während in der Embryonalphase die Nebennierenrinde der Hauptort der Androgenproduktion ist, übernimmt nach dem Schlupf der Hoden diese Aufgabe (Tanabe et al., 1979). So steigt der testikuläre Testosterongehalt des Hodengewebes von 13 pg/mg am 20. Entwicklungstag des Embryos auf 58 pg/ml beim Eintagsküken (Tanabe et al., 1979). Auf diesem Niveau hält er sich bis zum 7. Tag, fällt dann bis zur 4. Woche auf 15 pg/mg ab, um in der 5. Woche wieder auf 53 pg/mg anzusteigen (Tanabe et al., 1979). In der 10. Woche finden sich 0,8 ng/mg; der Wert sinkt bis zur 12. Woche auf 0,2 ng/mg, steigt von der 16. zur 18. Woche auf 0,4 ng/mg, fällt wieder bis zur 24. Woche auf 0,2 ng/mg, und hält sich dann auf diesem Niveau (Sharp et al., 1977).

Der Androstenediongehalt des Hodens ist in der 8. Woche mit 1 ng/mg am höchsten und fällt progressiv vor und während des Einsetzens der Pubertät auf Werte um 7,5 pg/mg (Sharp, 1977). Der Grund dafür, daß der Androstenediongehalt rapide fällt, ist nach Sharp et al. (1977) nicht bekannt. Connell et al. (1966) vermuteten eine durch LH bewirkte Umwandlung von Androstenedion zu Testosteron. Sharp et al. (1977) konnten jedoch

keinen Anstieg des Testosterons während des Androstenedionabfalles bemerken.

- Hypophysäres LH (Sharp et al., 1977):

Der totale Gehalt der Hypophyse an LH steigt während der sexuellen Entwicklung hauptsächlich von der 15. zur 16. Woche von ca. 2 µg/mg auf ca. 3 µg/mg Drüsen- gewicht, und von der 24. zur 26. Woche von 2 µg/mg auf 3,5 µg/mg. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Anstieg des LH in der Hypophyse und dem Hoden- gewicht.

- Plasma-Östrogen:

Der Plasma-Östradiolgehalt liegt bei jungen Hähnen zwischen 0,5 und 2 pg/ml, und bei erwachsenen zwischen 5 und 9 pg/ml (pers. Mitteilung Sharp).

- Plasma LH und Testosteron:

In der 4. bis 7. Woche ist der LH-Spiegel des Plasmas mit 5 ng/ml ziemlich hoch (Wilson, 1978). Dies liegt nach Wilson nicht an einer Insensibilität des Hypothalamus-Hypophysen-Komplexes auf die negative feed-back Reaktion des Testosterons. Da die von den Gonaden produzierte Menge (ca. 0,3 ng/ml; Tanabe et al., 1981) ausreichen würde, um die LH-Sekretion zu unterdrücken, folgert Wilson (1978), daß der Hypothalamus-Hypophysenkomplex in dieser Zeit eine höhere Kapazität besitzt, LH zu produzieren, als dies bei adulten Tieren der Fall ist. Von der 7. bis zur 9. Woche fällt der LH Spiegel auf 3,1 ng/ml; dieser Abfall wird nicht durch Testosteron unterdrückt, sondern durch die Sekretion anderer Steroide wie z. B. Östrogen (Wilson, 1978). Der Anstieg zwischen der 9. und 13. Woche auf 7,3 ng/ml liegt dagegen in einer verminderten Sensibilität des feed-back Systems auf Testosteron (Wilson, 1978), das zu der Zeit eine

Konzentration von 0,8 ng/ml Serum aufweist (Tanabe et al., 1981). Dem LH-Peak folgt nach zwei Wochen eine steigende Testosteronsekretion (bis auf ca 6 ng/ml in der 16. Woche), was durch die Gonadotropinstimulierung der Leydigzellen hervorgerufen wird (Sharp et al., 1977). Der LH-Spiegel steigt weiterhin auf 9,7 ng/ml bis zur 23. Lebenswoche (Wilson, 1978) und auf 12 ng/ml in der 29. Woche (Sharp et al., 1977). Der LH-Anstieg bewirkt eine signifikante Zunahme des Plasma-Testosterons ab der 20. Woche von ca. 3 ng/ml auf 15 ng/ml in der 29. Woche (Sharp et al., 1977). Bezüglich der Testosteronwerte gibt es unterschiedliche Literaturangaben: So finden Tanabe et al. (1981) zwischen der 4. und 13. Woche 0,3 - 0,8 ng/ml, ab der 14. Woche schon 1,5 ng/ml, und bei erwachsenen Hähnen Werte zwischen 1 und 3,5 ng/ml. Sharp et al. (1977) messen in der 8. bis 10. Woche ca 4 ng/ml, in der 14. Woche ca. 1 ng/ml und bei erwachsenen Hähnen 3 bis 15 ng/ml.

- Hodengewicht und Spermatogenese (Sharp et al., 1977): Die Hoden reifen sehr schnell in der Zeit zwischen der 16. und 24. Lebenswoche, wobei der Wachstumsbeginn mit einem Anstieg des hypophysären LH-Spiegels zusammenfällt (siehe oben). In der 8. Woche beträgt das Gewicht beider Hoden 0,2 g; in dieser Zeit sind lediglich ruhende Spermatogenien in den Tubuli seminiferi zu sehen. Bei 16 Wochen alten Hähnen hat die Spermatogenese bereits begonnen, d. h. die Tubuli sind mit Samenzellen gefüllt; die Hoden haben ein Gewicht von über 10 g. Zwei bis drei Wochen nach dem Beginn der Pubertät wachsen die Hoden noch bis zu einem Gesamtgewicht von 32 g.

Zusammenfassend wird nach Sharp et al. (1977) der Beginn der Pubertät durch folgende Ereignisse zwischen der 16. und 24. Lebenswoche gekennzeichnet:

- Abfall des Androstenediongehaltes der Hoden vor dem Hodenwachstum
- Anstieg des hypophysären LH-Spiegels zum Zeitpunkt des Wachstumbeginns
- Anstieg des gesamten Testosterongehaltes im Hoden und gleichzeitiger Anstieg des Plasma-LH's.
- Anstieg der Plasma-Testosteron-Konzentration

2.1.2.2 Sexualverhalten

Dörner (1972) teilt das Paarungs- bzw. das Sexualverhalten in zwei verschiedene Kategorien ein, die sich gegenseitig beeinflussen:

1. Die erotische Erregung, die Libido; sie wird durch bestimmte Reize ausgelöst und bedingt eine Annäherung an den Geschlechtspartner.
2. Die motorische Reaktionsweise, die geschlechtsspezifisch ist.

Androgene bewirken beim männlichen Tier durch zentralnervöse Effekte, daß die Libido auf bestimmte visuelle, olfaktorische, taktile oder akustische Reize hin ausgelöst werden kann. Jedoch ist ungeklärt, ob sie auch eine periphere Wirkung auf das Rückenmark und den Penis zur vollen Ausprägung des männlichen Sexualverhaltens ausüben (Davidson, 1977).

Offen steht, ob das Paarungsverhalten von der Serum-Testosteronkonzentration abhängig ist. Bei kastrierten Labortieren wurde festgestellt, daß 50% der Testosteronmenge, die ein normales Funktionieren der akzessorischen Geschlechtsdrüsen gewährleistet, die volle sexuelle Aktivität aufrecht erhält (Döcke, 1981). Ebenso erlischt sie nicht sofort nach der Kastration; hierfür sollen nicht die Androgene der NNR verantwortlich sein, sondern der Umstand, daß die durch Testosteron induzierten Prozesse im ZNS noch eine Weile selbständig ablaufen (Döcke, 1981). Cunningham et al. (1977) behandelten früh kastrierte Wachteln und Kontrolltiere unterschiedlicher sexueller Aktivität mit Testosteron. Dabei wurde festgestellt, daß Kapaunisierung das Sexualverhalten eliminiert. Testosterongaben stellten es wieder her, jedoch paarten sich diese Tiere nie so oft wie die nicht kapau nisierten Wachteln; bei letzteren hatte die Testosteronbehandlung einen depressiven Effekt auf die Gruppe mit hoher sexueller Aktivität, auf die Gruppe mit niedriger hatte sie keinen Einfluß. McCollom et al. (1971), die derartige Versuche an Hähnen und Kapaunen unterschiedlicher sexueller Aktivität vornahmen und ähnliche Ergebnisse erhielten, sind der Meinung, daß das Nervensystem entscheidend für das Verhalten ist. Die Hormone müssen hier einen bestimmten Schwellenwert übersteigen, um effektiv zu sein. Der Grad der sexuellen Aktivität würde also somit von der Sensibilität des Neuralgewebes abhängen. Dementgegen steht jedoch die Ansicht von Mashaly und Glick (1979), wonach die Ursache für ein reduziertes Paarungsverhalten neben dem Schwellenwert auch im Vorhandensein einer Barriere oder in einem mangelnden Serum-Testosteron-Spiegel liegen kann.

Der morphologische Angriffspunkt für das Auslösen der Libido und der motorischen Reaktionsweise, der auch als

Erotisierungszentrum bezeichnet wird, liegt in der Area präoptica medialis und im vorderen dorsalen Hypothalamus. Beim Hahn führen Schädigungen in diesem Bereich zu einem reduzierten Paarungsverhalten: Haynes und Glick (1974) setzten bei 35 Tage alten Hähnen Läsionen in verschiedenen Gebieten des Hypothalamus. Dabei stellte sich heraus, daß eine Schädigung der Area präoptica und des Corpus mamillare die Paarungsversuche reduzierten. Läsionen im Ruber nuclei, Nucleus mesencephalus und Nervus oculomotorius brachten eine undeutliche Steigerung. Veränderungen im Chiasma opticum erbrachten keinen Einfluß auf das Sexualverhalten. Testosteronimplantationen in Bereich der Area präoptica stellen das Paarungsverhalten bei Hähnen wieder her (Barfield, 1969). Deshalb nimmt Döcke (1981) an, daß Testosteron die Reaktionsbereitschaft dieser Zentren auf endogene und exogene Reize hin aufrechterhält.

Die Wirkungsweise der Androgene im ZNS ist noch nicht genau geklärt. Beim Geflügel wandelt ein α -Reduktasesystem zusammen mit einem β -Reduktasesystem Testosteron in Dihydrotestosteron (DHT) und Androstandion um (Massa et al., 1977). Motta et al. (1981) untersuchten diese Enzymaktivität an Ratten nach Kastration und nach anschließenden Testosterongaben: Die Kastration bewirkt in der Hypophyse eine Zunahme an DHT, was eine Hyperaktivität des α -Reduktasesystems bedeutet. Im Hypothalamus hatte die Kastration keinen Einfluß auf die Bildung von DHT. Die kastrierten Ratten, die anschließend Testosteronpropionat erhielten, zeigten in der Hypophyse eine Inhibition der DHT Bildung, im Hypothalamus dagegen wiederum keinerlei Beeinflussung der Enzyme.

Die weitere Wirkung der Androgene bzw. ihrer Metaboliten im ZNS wird über Neurotransmitter vermittelt. So hemmt

Serotonin die männliche Sexualaktivität, wogegen sie durch Acetylcholin und Katecholamine gefördert wird (Sandler und Tagliamonte, 1975). Versuche beim Mann, die reduzierte Sexualaktivität durch Hemmer der Serotoninsynthese zu fördern, brachten noch keine eindeutigen Ergebnisse (Döcke, 1981).

2.1.2.3 Plasma-Eiweißbindung als Parameter für die biologische Wirksamkeit

Freies Testosteron besitzt im Blutplasma eine biologische Halbwertszeit von 11 Minuten. Die Verstoffwechslung findet zu einem geringen Teil in den Androgeneffektorzellen, zum größten Teil aber in der Leber statt. Um einen konstanten Wirkungsspiegel aufrecht zu erhalten, wird das Testosteron an Plasmaproteine gebunden:

Testosteron * Eiweiß ---- Testosteron + Eiweiß.

Untersuchungen von Corvol und Bardin (1973) zeigten, daß z. B. bei Primaten und bei Artiodaktylen Testosteron neben der Albuminbindung eine starke Affinität zu einem Protein der β -Globulinfraktion, dem Testosteron-Binding-Globulin, besitzt. Dieses Protein konnte beim Geflügel nicht nachgewiesen werden. Beim Geflügel wird Testosteron an die Plasma-Albumine gebunden, die eine geringe Affinität, aber eine hohe Kapazität besitzen. Bei Primaten beträgt die Albuminbindung ca. 78 % (Sandberg, 1976). Für das Geflügel sind in der Literatur noch keine Werte angegeben.

Für die biologische Wirksamkeit entscheidet der ungebundene Anteil des Hormons. Eine erhöhte Bindung hat negative Auswirkungen auf die Verfügbarkeit und dementsprechend auf die Effektivität.

2.1.3 Regulation der Keimdrüsenfunktion

2.1.3.1 Die Leydigzellen

In den Leydigzellen wird unter der Einwirkung von LH aus Cholesterin Testosteron gebildet. Die Produktivität dieser Zellen hängt aber nicht nur von der Anwesenheit von LH, sondern auch von der Tätigkeit der in den Hormon-Reaktions-Prozeß miteinbezogenen Enzyme ab:

Die Plasmamembran der Leydigzellen besitzt Bindungsstellen für LH mit hoher Affinität; sobald der Hormon-Rezeptor-Komplex zustande gekommen ist, wird er mit Hilfe von GTP an eine katalytische Untereinheit der Adenylcyklase gebunden (Abramowitz et al., 1979). Daraufhin wird die Adenylcyklase aktiviert, wobei der Grad der Aktivierung von Mg^{++} , Ca^{++} und ATP abhängig ist (Abramowitz et al., 1979). Über die Rolle des "second messengers" Cyclo-Adenosin-Monophosphat (cAMP) gaben Versuche von Dufau et al. (1977) Auskunft: Sie zeigten, daß nach human Chorion Gonadotropin-Wirkung auf die Leydigzellen der endogene cAMP-Anteil, der an der regulatorischen Untereinheit der Proteinkinase gebunden ist, steigt, und gleichzeitig der ungebundene Anteil fällt. Der Aktivierungsgrad der Proteinkinase hängt dementsprechend von der intrazellulären Konzentration des cAMP ab, gleichzeitig aber auch von der das cAMP zu 5'AMP umwandelnden cAMP-Phosphodiesterase (PDE) (Cusan et al., 1981).

Labile Proteine wie Aktin, die nach LH-Stimulation gebildet werden, erleichtern den Transport von intrazellulärem Cholesterin in die Mitochondrien (Hall et al., 1980). Dort wird es an Cytochrom P450 gebunden (Simpson, 1979), und mit dessen Hilfe über 22-Hydroxycholesterin und 20,22-Dihydroxycholesterin zu Pregnenolon umgewandelt. Die Produktion von Testosteron aus Pregnenolon er-

folgt im glatten endoplasmatischen Retikulum, wobei die dabei beteiligten Enzyme die dauernde Anwesenheit von LH benötigen (Shaw et al., 1979).

Die Ansprechbarkeit der Leydigzellen kann gestört werden durch:

- Ein Überangebot an LH:

24 Stunden nach hCG-Gabe an Leydigzellen in vitro konnte von Cusan et al. (1981) eine reduzierte Aktivierbarkeit der Adenylcyklase durch LH festgestellt werden. Diese Tatsache könnte ihrer Meinung nach daran liegen, daß die Adenylcyklase vom Rezeptor abgekoppelt ist. Zudem beobachteten sie eine erhöhte Aktivität der cAMP-Phosphodiesterase. Bei länger-dauernder Einwirkung hoher LH-Dosen, wie z. B. beim Leydigzelltumor kommt es zum Rezeptorenverlust durch Endozytose des Hormon-Rezeptor-Komplexes (Ascoli und Puett, 1977).

- Steroide

Kalla et al. (1980) untersuchten die Einwirkung von Östradiol auf die Testosteronsynthese im Hoden und erhielten dabei folgende Ergebnisse:

- Der Plasmatestosteronspiegel sinkt
- Der testikuläre Gehalt an Testosteron, Androstenedion und an Dehydroepiandrosteron sinkt ebenfalls
- Der testikuläre Progesteron- und 17-Hydroxyprogesterongehalt steigt
- Der Pregnenolonegehalt bleibt unverändert
- Die Bindung der Leydigzellen für hCG nimmt ab

Aus diesen Ergebnissen folgern Kalla et al., daß der Haupteffekt des Östrogens in der Reduzierung der C₁₇-C₂₀-Desmolase Aktivität liegt. Dufau et al. (persönliche Mitteilung an Cusan et al., 1981) zeigten zudem

eine sehr gute zeitliche Korrelation zwischen der durch Östrogen verhinderten Biosynthese von Testosteron und dem nukleären Gehalt von Östradiol-Rezeptor-Komplexen.

Hohe Testosteronkonzentrationen führen ebenfalls zu einem steroidogenen Block (Purvis et al., 1979). Ein Teil dieses Effekts kann ein Ergebnis der Umwandlung von Testosteron zu Östrogen sein (Cusan et al., 1981). Die Anwesenheit von Androgenrezeptoren auf den Leydigzellen ist ein weiterer Hinweis dafür, daß Androgene einen direkten Einfluß auf die Zellen haben, in denen sie produziert werden (Verhoeven, 1980).

Die Wirkung von FSH auf die Leydigzellen-Steroidsynthese wurde an hypophysektomierten Ratten untersucht: Nach FSH-Gabe ist ein Anstieg der maximalen durch LH stimulierten Androgenproduktion und eine Erhöhung der LH Rezeptorenzahl zu sehen (Ketelslegers et al., 1976). Der genaue Wirkungsmechanismus ist jedoch noch ungeklärt, da Leydigzellen keine FSH-Rezeptoren besitzen (Mancini et al., 1967).

2.1.3.2 Die Sertolizellen

Die Sertolizellen haben die Aufgabe, die benachbarten Germinativzellen zu schützen und zu ernähren. Sie sezernieren eine proteinreiche Flüssigkeit - darunter das ABP - die die Spermatogenese aufrechterhält (Hansson et al., 1978). Über die Bildung eines Plasminogen-Aktivators, der bei der Öffnung der Sertolizellverbindungen mitwirkt, ermöglichen sie den Spermatogenesezellen den Aufstieg in die adluminal Region der Samenkanälchen (Lacroix et al., 1977).

Die Sertolizellen sind der Hauptangriffspunkt für FSH, das hier spezifisch an Plasmamembran-Rezeptoren gebunden wird (Means und Vaitukaitis, 1972). Die Bindung an den Rezeptor ist ein sättigbarer Prozeß mit hoher Affinität und niedriger Kapazität (Steinberger et al., 1974). Versuche von Means et al. (1976) erbrachten, daß bei unreifen Tieren daraufhin die Aktivität der Adenylcyklase steigt, dagegen die der Phosphodiesterase (PDE) fällt. Dementsprechend steigt der Gehalt an cAMP, welches die Proteinkinase aktiviert (Means et al., 1975). Auf Grund dieser Stimulation werden verschiedene Proteine gebildet, wie das Androgen-binding Protein (ABP) (Means et al., 1976) und das Plasminogen (Lacroix et al., 1977). Der Grad der FSH-Effektivität ist altersabhängig: Zwar nimmt die Zahl der FSH-Rezeptoren mit dem Alter zu (Fakunding et al., 1975), jedoch steigt die Aktivierung der Adenylcyklase nur bei unreifen Tieren und nimmt mit dem Alter ab (Means et al., 1976). Letzteres könnte nach Means et al. (1978 a) an einer defekten Kopplung des Hormon-Rezeptor-Komplexes an die Adenylcyklase liegen. Die Aktivierung der Proteinkinase ist ebenfalls bei juvenilen Tieren am stärksten ausgeprägt (Means et al., 1975). Hierfür ist nach Means et al. (1976) die Phosphodiesterase entscheidend, da sie cAMP in 5'AMP umwandelt.

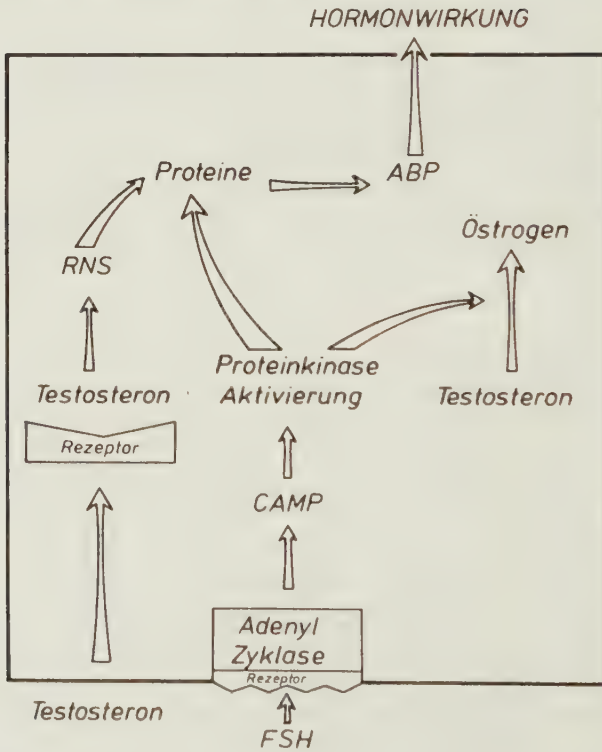
Während, wie oben schon erwähnt, FSH bei unreifen Tieren die PDE-Aktivität unterdrücken kann, ist dies bei Erwachsenen nicht mehr der Fall: FSH reguliert die Ca^{++} -Verbindungen in Richtung auf den gebundenen Teil (Means et al., 1978 b); da Ca^{++} beim jugendlichen Tier, nicht aber beim adulten, die Phosphodiesterase (PDE) stimuliert (Fakunding et al., 1975), wird durch die Erhöhung des gebundenen Ca^{++} -Anteils durch FSH diese Wirkung unterdrückt (Means et al., 1978 b). Da FSH für die

Entwicklung der Spermatogenese entscheidend ist, kann eine erhöhte Sensibilität der Sertolizellen gegenüber FSH in dieser Zeit für den Eintritt der Geschlechtsreife hilfreich sein (Steinberger, 1981). Zusammen mit Calmodulin bewirkt Ca^{++} die Kontraktion der Sertolizellen, und somit eine Veränderung im Zytoskelett in der Weise, daß die Spermatogenesezellen in Richtung Lumen wandern können, bzw. die Spermatiden freigesetzt werden (Means et al., 1978 b).

Androgene werden ebenfalls an spezifische zytoplasmatische Rezeptoren gebunden. Der Rezeptor-Hormon-Komplex wird dann in einer temperatur-, zeit- und dosisabhängigen Reaktion in den Kern überführt, wo eine RNA-Polymerase stimuliert wird (Lamb et al., 1981). So wird z. B. die Bildung von FSH-Rezeptoren induziert (Means et al., 1976).

Es ist noch nicht genau geklärt, welches Hormon - Androgene oder FSH - für die Synthese des ABP verantwortlich ist. Versuche von Dym et al. (1979) zeigten, daß bei nicht geschlechtsreifen Ratten FSH-Abwesenheit in einer erniedrigten ABP-Konzentration resultiert, während bei reifen Ratten Testosteron alleine für die Aufrechterhaltung des ABP-Spiegels genügt. Ritzén et al. (1978) vermuten, daß Testosteron zwar die ABP-Konzentration erhöht, die Produktion jedoch unabhängig von der Androgenstimulation ist. Ihrer Meinung nach hat das ABP die Aufgabe, Testosteron und DHT im Hoden zu konzentrieren. Steinberger (1981) unterstützt diese Hypothese, da das ABP eine hohe Affinität für Androgene und eine schnelle Dissoziationsrate besitzt, und so der Nachfrage der Germinativzellen nach hohen Androgenkonzentrationen für ihre Differenzierung entspricht (siehe Abbildung 1).

Abb.1: Die Sertoli Zelle, nach Means, 1976



Franchimont et al. (1978) isolierten Inhibin aus menschlichem Seminalplasma und aus der Rete testis Flüssigkeit. Hier wurde durch Inhibin eine selektive Unterdrückung der FSH-Ausschüttung beobachtet; jedoch zeigten höhere Dosen von Inhibin einen negativen Effekt auf die LH-Freisetzung. Die Sekretion des Inhibin scheint hormonell reguliert zu werden. So fand Steinberger (1980), daß Hypophysektomie die Produktionsrate herabsetzt, wogegen die Gaben von FSH, LH oder Testosteron die Sekretion des Sertolizell-Faktors auf normalen Werten halten können. FSH plus LH bzw. FSH plus Testosteron erschienen dabei effektiver als alleinige FSH-Gaben, so daß ein Synergismus zwischen den Hormonen angenommen wurde. Die physiologische Bedeutung des Inhibin ist noch nicht genau geklärt. Eine Unterproduktion führt zu erhöhten FSH-Spiegeln, eine Überproduktion durch FSH-Unterdrückung zur Oligozoospermie oder Infertilität (Steinberger, 1981). Sertolizellen besitzen auch im geringen Maße steroidogene Aktivität, und können unter FSH-Stimulation Testosteron zu 17- β -Östradiol umwandeln (Dorrington et al., 1978).

2.1.3.3 Die Spermatogenesezellen

Autoradiographische Studien von Orth und Christensen (1978) zeigten FSH-Bindungsstellen an Spermatogonien von Ratten in einer Dichte, die der der Sertolizellen ähnlich ist. Nach Means (1975) wird durch FSH die Mito-serate der Spermatogonien erhöht und deren Degeneration reduziert. Bei unreifen Ratten resultiert ein FSH-Mangel in kleineren Hoden, geringerem Durchmesser der Tubuli seminiferi und einer geringeren Anzahl von Spermatozyten und Spermatiden, wogegen bei geschlechtsreifen Tieren Testosteron alleine genügt, um die Spermatogenese aufrecht zu erhalten (Dym et al., 1979).

Der genaue Wirkungsort der Androgene im Spermatogenesesyklus ist noch nicht vollständig geklärt. Döcke (1981) nimmt an, daß hauptsächlich die späten Reifungsschritte, d. h. die meiotische Reduktionsteilung von den primären zu den sekundären Spermatozyten und dann zu den Spermatischen gefördert werden. Dies wird bestätigt durch Untersuchungen von Sharp et al. (1977) beim Hahn, wo beschrieben wird, daß ein Anstieg des Plasmatestosteronspiegels ab der 20. Lebenswoche mit der Formation von Spermatozoen und Spermatischen assoziiert war.

2.2 Immunologie

2.2.1 Autoimmunreaktion männlicher Gonaden

2.2.1.1 Schutzeinrichtungen: Aufbau der Blut-Hoden-Schranke und Abwehrzellen

In den spermienproduzierenden Tubuli seminiferi befinden sich Antigene tragende Germinalzellen und Spermatozyten, die bei Kontakt mit dem Abwehrsystem des Körpers eine Autoimmunreaktion hervorrufen können (Erickson, 1971). Um dies zu verhindern, ist in diesem Bereich die sogenannte Blut-Hoden-Schranke ausgebildet. Dym und Fawcett (1970) beschreiben an Rattenhoden die Durchlässigkeit der Tubuli seminiferi für das kleine, elektro-nenopake Tracermolekül Lanthanum. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen brachten dabei Aufschluß über die Zusammensetzung der Blut-Hoden-Schranke .

Die Autoren unterteilen den Aufbau dieser Barriere in eine basale und eine adluminale Region:

Der basale Teil setzt sich, von innen nach außen, zusammen

- aus einer Schicht von Myoidzellen, die über tight junctions miteinander verbunden sind. Diese Zellaugen wird zuweilen durch 2 nm breite Interzellulärspalten unterbrochen, welche von dichtem extrazellulärem Material bedeckt sind. So ist es möglich, daß Lanthanum hier zu 10 - 15 % penetrieren kann.
- aus einer Basalmembran
- aus dem basalen Anteil der Sertolizellen und aus den Germinativzellen. Beide Zellarten sitzen der Basallamina auf. Während beim Säuger die Spermatogonien über 20 nm von den Sertolizellen getrennt sind, gibt es beim Hahn desmosomenartige Verbindungen unterschiedlicher Gestalt, und die Anwesenheit von weiten Bereichen elektronendichten Materials im Interzellulärspalt, die man auch zwischen Sertolizellen und späteren Stadien der Spermatozyten findet (Osman et al., 1980).

Die Sertolizellen bilden untereinander beim Säuger "spezielle Kontakte" mit 9 nm bzw. 2 nm breiten Zwischenräumen und zusätzlich gap junctions aus (Dym und Fawcett, 1970). Beim Hahn fehlen diese "speziellen Kontakte". Osman et al. (1980) unterscheiden hier desmosomenartige Verbindungen und die Ausbildung von langen und weiten Zisternen des endoplasmatischen Retikulums nahe der Plasmamembran.

Der adluminale Teil wird von einer Kette multipler fokaler tight junctions gebildet, die sowohl beim Säuger (Dym und Fawcett, 1970) als auch beim Hahn (Osman, 1980) für Lanthanum undurchlässig sind. Die Verbindung zwischen den Sertolizellen und den Spermatiden besteht aus einer Schicht von kondensiertem filamentösem Material, bzw. auch hier wiederum aus ausgedehnten Flächen von elektronendichtem Gewebe direkt unter der Oberfläche

der Sertolizellmenbran (Osman et al., 1980). Nährstoffe und Gonadotropine durchdringen die kontraktile Platte der Myoidzellen und haben Zugang zu den Spermatogonien, oberhalb dieser Schicht kann die Versorgung der Spermatozyten und Spermatiden nur über die Sertolizellen erfolgen (Dym und Fawcett, 1970).

Die Tubuli seminiferi münden in ihrem weiteren Verlauf in das Rete testis. Untersuchungen von Osman (1980) beim Hahn erbrachten, daß es für diesen Übergang des spermienproduzierenden in das spermienableitende System drei verschiedene Möglichkeiten gibt:

- Die Tubuli seminiferi werden über ein Terminalsegment und einen Tubulus rectus an das Rete angeschlossen.
- Die Tubuli seminiferi münden nur über ein Terminalsegment.
- Die Tubuli seminiferi öffnen sich direkt in das Rete testis.

Im Terminalsegment befinden sich modifizierte Sertolizellen, die auch als Säulenzellen bezeichnet werden, vereinzelt Spermatogonien und intraepitheliale Lymphozyten. Die Säulenzellen sind bei der Ratte über typische Sertolizellkontakte miteinander verbunden, d. h. fokale tight junctions, Bündel von Mikrofilamenten und oberflächennahe Zisternen, sowie desmosomenartige Verbindungen und kondensiertes elektronendichtes Material auf der zytoplasmatischen Seite der Plasmamembran (Osman und Plöen, 1978). Beim Hahn findet man nur fokale tight junctions und Desmosomen (Osman, 1980). Lanthanum kann so im Terminalsegment nur bis zum adluminalen Teil penetrieren, was für die Fortsetzung der Blut-Hoden-Schranke in diesem Bereich spricht

(Osman und Plöen, 1978). Dagegen wird in den Tubuli recti, die ein dem Rete testis ähnliches Epithel besitzen (Osman, 1980), und im Rete testis selbst diese Permeabilitätsbarriere nicht aufrecht erhalten (Dym, 1976).

Diese Annahme wird bestätigt durch Versuche von Johnson und Setchell (1968), die in der Flüssigkeit der Tubuli seminiferi und des Rete testis vom Widder den Protein- und Immunglobulingehalt bestimmten. Während in den Tubuli seminiferi kaum Immunglobuline nachzuweisen waren, konnten im Rete testis solche der IgG₁, IgG₂ und der IgM Klasse in einem Gehalt von 0,2 % der Serum-Ig-Konzentration gefunden werden. Koskimies et al. (1971) bestätigten derlei Befunde an Rattenhoden mittels der Doppel-Diffusions-Präzipitations-Technik: Die Flüssigkeit des Rete testis zeigte gegenüber Anti-Ratten-Serum deutliche Präzipitationslinien, die Reaktion der Flüssigkeit der Tubuli seminiferi blieb dagegen negativ.

Neben der Blut-Hoden-Schranke gibt es beim Säuger und beim Geflügel noch andere Einrichtungen, die den Organismus vor der Ausbildung einer Autoimmunreaktion schützen:

Bruecker (1975) fand beim Schwan während der Regressionsphase des saisonalen Zyklus im Lumen der Tubuli seminiferi desquamierte Sertolizellen, die mit Fragmenten von Germinativzellen beladen waren. Osman (1980) beschreibt modifizierte Sertolizellen in den Terminalsegmenten mit inkorporierten Teilen von Spermatozoen. Beim Säuger wurde sowohl vom Rete-Epithel (Dym, 1976) als auch vom Epithel des Ductus epididymidis (Hoffer et al., 1975) die Fähigkeit beschrieben, Spermatozyten zu phagozytieren. Im gesamten Ausführungsgangsystem, d. h. beginnend mit den Terminalsegmenten konnten intraepithe-

liale Lymphozyten beim Säuger (Dym und Romrell, 1975) und beim Hahn (Aire und Malmquist, 1979) gefunden werden. Aire und Malmquist (1979) beschrieben diese Lymphozyten genauer: Es handelt sich um intraepitheliale, meist an der Basallamina gelegene Zellen mit dunklem Kern und hellem Hof, fingerähnlichen Fortsätzen und einem pleomorphen Erscheinungsbild. Untereinander besitzen sie keine Verbindung. Die Lymphozyten verlassen das Epithel nicht und sind auch nicht im Lumen des gesamten Gangsystems zu sehen.

Die Herkunft der Lymphozyten ist noch ungeklärt; nach Aire und Malmquist (1979) scheint es beim Hahn einen Regulationsmechanismus zu geben, der den Zugang der Lymphozyten in das Epithel reguliert. Dym und Romrell (1975) sind der Auffassung, daß es sich um immunkompetente Zellen handelt, die über chemotaktische Faktoren angelockt werden und verhindern sollen, daß Sperma-Antigene in den Blutkreislauf kommen. Die Autoren belegen ihre Vermutung damit, daß es im gesamten abführenden System keine Permeabilitätsbarrieren mehr gibt, und hier auch eine beachtliche Reabsorption von Abbauprodukten der Spermatozoen besteht. Zudem sei bei nicht geschlechtsreifen Tieren die Anzahl der Lymphozyten weit aus geringer. Bei vasoligierten Hähnen sind diese Zellen ebenfalls deutlich erhöht (Aire und Malmquist, 1979).

Als weitere Zellart, die an der Phagozytose von antigenem Spermienmaterial beteiligt ist, nennt Holstein (1978) die Spermatophagen. Aire und Malmquist (1979) fanden derartige Zellen in den abführenden Gängen des Hodens beim Hahn. Die Herkunft dieser Makrophagen wird von Holstein (1978) für den Rhesusaffen und den Mann genauer beschrieben: Da alle möglichen Übergangsformen

von Monozyten und reifen Makrophagen, die schließlich mit Spermatozoen und Zellfragmenten beladen waren, beobachtet werden konnten, nimmt man an, daß die multinukleären Makrophagen von Blutmonozyten abstammen, die über die Tubuli seminiferi in das Gangsystem gelangten.

2.2.1.2 Antigenität

- Seminalplasma

Beim Säuger bilden die akzessorischen Geschlechtsdrüsen den größten Teil des Seminalplasmas. Da beim Hahn diese Einrichtungen fehlen, wird die Seminalflüssigkeit wahrscheinlich im Gesamtbereich des Geschlechtsapparates erzeugt. Bei der Ejakulation wird vom Lymphfaltenschwellkörper, dem Kopulationsschwellkörpersystems des Hahnes, immunglobulinhaltige Lymphe, die "transparent fluid", in das Kloakenlumen abgegeben (von Rautenfeld et al., 1978). Die Samenflüssigkeit enthält Endprodukte des Metabolismus von Spermatogonien und Spermatozyten, und verschiedene Enzyme, die für die Überlebenschance der Spermien eine Rolle spielen (Hadarag und Bunanciu, 1976).

Über die antigene Potenz des Seminalplasmas beim Hahn gibt die Literatur keine Hinweise. Die homologe Immunisierung von Kaninchen mit nativer Seminalflüssigkeit plus Freund's Adjuvans erbrachte eine reduzierte Spermienanzahl und Schäden im Hodengewebe, die der einer allergischen Orchitis ähnlich waren (Yantorno et al., 1971). Die Bestandteile der Samenflüssigkeit von Hähnen (Enzyme, Metabolisierungsprodukte) könnten ebenso eine derartige Reaktion hervorrufen.

- Spermatozoen:

Freund et al. (1953) demonstrierten als erste die Auto- und Homoantigenität von Meerschweinchenspermien, die mit komplettem Freund's Adjuvans gemischt waren: Spermien vom Nebenhoden wurden mit dem Adjuvans emulgiert und dem Tier injiziert. Einige Wochen später konnte eine selektive Schädigung der Germinativzellen beobachtet werden. Alonso et al. (1969) ließen Anti-Hoden-Serum gegen ganze Spermatozoen, das Akrosom und den restlicher Teil des Spermiums diffundieren: Die Spermatozoen und das Akrosom zeigten deutliche Präzipitationslinien, wogegen die Reaktion mit dem restlichen Teil negativ war. Voisin und Toullet (1968) erkannten an Homogenaten von gewaschenen Nebenhodenspermien vier verschiedene Antigene, die sie mit S, P, T und Z bezeichneten:

- T: Wahrscheinlich ein Lipoprotein, das an Zellmembranfragmente gekoppelt ist. Seine Immunogenität bewirkt einen Autoantikörperanstieg, allergische Reaktionen vom verzögerten Typ und Hodenschädigung wie bei einer allergischen Orchitis.
- S: Ein Glykoprotein. Es führt zur zellulären und humoralen Antikörperproduktion mit Schädigung der Tubuli seminiferi.
- P: Ein Protein mit geringem Zuckeranteil. Es induziert Läsionen am Hoden und aspermatogene Antikörper.
- Z: Dieses Antigen ist nicht näher beschrieben.

Neben den Antigenen, die sich im Akrosom befinden, existieren noch solche, die der Membran von primären Spermatozyten und Spermatogonien angelagert sind und als "coating antigens" bezeichnet werden. Hierbei

handelt es sich um Histokompatibilitätsantigene (Erickson, 1971), laktoferrinartige Proteine und Enzyme wie z. B.: Hyaluronidase (Metz et al., 1976).

- Hodengewebe:

a) Germinalzellantigene

Über verschiedenen Extraktions- und Reinigungsmethoden konnten im Hoden von Meerschweinchen folgende Antigene gefunden werden:

- Ein Protein-Polysaccharid-Molekül (Freund et al., 1955).
- Das Enzym Sorbitol-Dehydrogenase in den Mitochondrien und im Zellsaft der Spermatozyten (Bishop, 1969).
- Das Milchsäure-Dehydrogenase-X-Isoenzym. Es ist spezifisch für meiotische und postmeiotische spermatogene Zellen und für Spermatozoen (Evret et al., 1973).
- Das Enzym Hyaluronidase (Katsh, 1960).
- Ein stark antigenetisch wirksames Glykopeptid (Katsh et al., 1972).

b) Nicht-Germinalzell-Antigene

Präparationen von Basalmembranen der Samenkanälchen von Ratten, die anschließend an Kaninchen verimpft wurden, erbrachten spezifische Immunseren mit einem hohen Titer (Lustig et al., 1973).

2.2.1.3 Humorale Immunität

Nach der Immunisierung von Meerschweinchen mit Hoden- oder Spermienantigenen wurden nach Bandhauer (1982) folgende Antikörpertypen festgestellt:

- Komplement fixierende

- Präzipitierende
- Hämagglutinierende (Pandhauer, 1966)
- Immunfluoreszierende: Sie spielen eine Rolle bei der allergischen Orchitis und korrespondieren mit dem Antigen des Akrosoms
- Anaphylaktische: Bei bereits sensibilisierten Tieren führt die intradermale Applikation des Antigens zur lokalen anaphylaktischen Reaktion (Freund et al., 1953).
- Immobilisierende: Serum von normalen Tieren immobilisiert Spermien zu einem geringen Teil im vitro; Immunsérum von sensibilisierten Tieren dagegen bis zu einem Titer von 1/128; diese Reaktion ist komplementabhängig (Mancini et al., 1969).
- Zytotoxische: Dieser Effekt ist komplementabhängig und wird wahrscheinlich durch Antikörper der IgG Klasse ausgelöst: Komplement und Antikörper bewirken eine Permeabilitätsstörung z. B. der akrosomalen Membran, wodurch es zum Verlust niedermolekularer Zellbestandteile kommt (Mancini et al., 1969; Green und Silverblatt, 1960). Die Antikörper kommen ebenfalls in normalem homologem Serum vor (Spooner, 1964).
- Agglutinierende: Diese Fähigkeit kann in normalem Serum bei niedrigem Titer nachgewiesen werden; nach Sensibilisierung mit Hodenantigen plus Freund's Adjuvans steigt der Titer beträchtlich (Shulman et al., 1971). Nach Rümke und Hellings (1959) gibt es keinen direkten Zusammenhang zwischen dem Serumagglutinationstiter und der Agglutination im Ejakulat, da Patienten mit hohem Serومتiter nicht unbedingt Spermienagglutination zeigen und Patienten mit niedrigem Titer eine hohe Agglutination aufweisen können. Nach Hamerlynk

und Rümke (1968) besteht eine positive Korrelation zwischen der Spermatotoxizität und der Sperma-Agglutination: Bei einer Kopf-Kopf-Agglutination war die Spermatotoxizität hoch, bei einer Schwanzspitze-Schwanzspitze-Agglutination niedrig.

- Zytophile Aktivität: Hierunter versteht man die Fähigkeit von Makrophagen homologe Spermatozoen zu adsorbieren; diese Reaktion kommt auch in normalem Serum vor, ist komplementunabhängig, und wird durch IgG verursacht (Barrera et al., 1976).

Über die Herkunft der Autoantikörper im Sperma des Hahnes gibt die Literatur noch keinen genauen Aufschluß. Da jedoch sowohl die "transparent fluid" (von Rautenfeld et al., 1971) als auch das Seminalplasma (Leslie et al., 1978) Antikörper enthalten, könnten hier die Quelle für autoaggressive Antikörper liegen.

2.2.1.4 Ätiologie der Autoimmunreaktion

Rümke und Hellinga (1959) untersuchten die Hoden von Patienten mit spermienagglutinierenden Antikörpern im Serum, und stellten bei allen infektiös oder traumatisch bedingte Schäden des Hodengewebes oder eine Obstruktion der samenableitenden Wege fest.

Bei neonatal thymektomierten Mäusen kommt es zur ovariellen Dysegenese; die Ursache dafür liegt nach Michael et al. (1981) in einem Mißverhältnis zwischen T-Helfer- und T-Suppressor-Zellen: Ein Mangel an Suppressorzellen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Helferzellen könnte bewirken, daß B-Zellen Autoantikörper gegen die Oozyten produzieren.

Überhaupt zeigen Patienten mit einem fehlerhaften Abwehrsystem eine erhöhte Anzahl von Autoantikörpern. Eine mögliche Ursache kann z. B. darin liegen, daß bei einem mangelhaften Abwehrsystem der Organismus mengenmäßig mehr Antigenen ausgesetzt ist als dies normalerweise der Fall ist.

Androgene stimulieren die zelluläre Immunantwort, indem sie die Migration der T-Lymphozyten aus den Kapillaren unterstützen (Viken, 1976). Hierdurch kann dann auch eine erhöhte Reaktionsbereitschaft des Immunsystems gegenüber körpereigenem Gewebe, d. h. eine Autoimmunreaktion hervorgerufen werden (Grossman, 1984).

3. Material und Methode

3.1. Tiermaterial

3.1.1. Tiere

Untersucht wurden juvenile und erwachsene dysgammaglobulinämische Hähne der UM Bl9 Linie (Fiedler et al. 1980), sowie geschlechtsreife, sich in der Legetätigkeit befindende Hennen derselben Linie. Zur Kontrolle wurden geschlechtsreife weiße Leghorn-Hähne und Hennen der HNL-Linie herangezogen. Die Hennen befanden sich ebenfalls in der Legetätigkeit.

3.1.2. Haltung

Sowohl die adulten Hähne als auch die Hennen wurden in Einzelkäfigen mit Gitterboden gehalten, wobei Sichtkontakt zu anderen Tieren gegeben war. Futter und Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Das Lichtprogramm war auf einen "16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkelheit" Rhythmus eingestellt. Die juvenilen Tiere wurden entsprechend ihrem Alter in kleineren oder größeren Gruppen gehalten. In Bezug auf Futter, Wasser und Lichtprogramm hatten sie dieselben Bedingungen wie die erwachsenen Hähne.

3.1.3. Serum

Die Blutproben wurden durch Punktion der Vena ulnaris erhalten. Anschließend wurden sie bei 37°C 45 Minuten und dann über Nacht bei +4°C aufbewahrt. Durch zweimaliges 15 Minuten dauerndes Zentrifugieren des Blutes bei 500 g und jeweils anschließendem Abpipettieren wurde

das Serum gewonnen, welches bis zum Gebrauch bei -20°C tiefgefroren war.

3.2. Hormonbestimmung

3.2.1. Testosteron und Östrogen

Testosteron und Östrogen wurde mittels eines Radioimmunoassay (RIA) bestimmt. Beide Kits (Direct Testosterone-125J Kit und direct 17- β Estradiol-125J Kit) wurden von der Firma DRG-Instruments GmbH, Marburg, bezogen. Beide Testsysteme bestimmten sowohl den proteingebundenen, als auch den freien Hormonanteil. Das Prinzip der Kits besteht darin, daß eine gewisse Menge spezifischer Antikörper mit dem jeweiligen 125J markierten und unmarkierten Hormon eine Bindung eingeht. Je nach der Konzentration des sich im Serum befindenden Hormons wird viel oder wenig markiertes Hormon an den Antikörper gebunden. Ein zweiter präzipitierender Antikörper fällt den gebildeten Komplex aus. Der Überstand wird dekantiert, und die Radioaktivität des Sediments mit einem Gammazähler (Packard-Auto-Gamma) gemessen. Mit bekannten Hormonkonzentrationen wird eine Standardkurve errichtet, so daß anhand derer die Hormonkonzentration im Serum ermittelt werden kann.

3.2.2. LH

Die LH-Spiegel wurden freundlicherweise von P. Sharp, Poultry Research Center, Roslin, Midlothian, bestimmt. Bei diesem RIA wurden gereinigtes, Jod markiertes Hühner LH und Antikörper gegen Hühner LH verwendet.

3.2.3. Testosteron - und LH - Tagesverlauf

Bei 14 Wochen alten und adulten dysgammaglobulinämischen Hähnen sowie bei geschlechtsreifen weißen Leghornhähnen wurde in 3-stündigen Abständen über 21 Stunden von 9⁰⁰ bis 6⁰⁰ Uhr Blutproben entnommen. Um eine durch Licht bedingte Veränderung der Hormonausschüttung zu vermeiden, wurde in der Dunkelphase die Venenpunktion im Dämmerlicht durchgeführt. Den adulten dysgammaglobulinämischen Hähne wurden zuvor 7 Tage lang einmal täglich um 10³⁰ Uhr für 15 Minuten je 2 Hennen in den Käfig gesetzt.

3.3. Testosteronsubstitution

3.3.1. Verhalten

Bei zwei Gruppen geschlechtsreifer dysgammaglobulinämischer Hähne gleicher Altersverteilung (6 Monate bis 1 Jahr) wurde nach den Kriterien: Balzen, Tretversuch, Besteigen der Hennen und Besteigen mit vollzogenem Kloakenkontakt, die Paarungsfähigkeit beobachtet und schriftlich festgehalten. Hierfür wurden jedem Hahn über einen Zeitraum von 7 Tagen einmal täglich um 10³⁰ Uhr für 15 Minuten zwei Hennen zugesetzt. Da Unverträglichkeiten zwischen Hahn und Henne auch negative Einwirkungen auf das Paarungsverhalten ausüben, wurden zur Gewöhnung immer dieselben Hennen dem jeweiligen Hahn zugeordnet. Das Paarungsverhalten wurde vor und sofort nach der 14 tägigen Testosteronpropionat- bzw. Öl-Applikation beobachtet.

3.3.2. Testosteronpropionatsubstitution

Eine Gruppe von Hähnen der UM B19 Linie erhielt über einen Zeitraum von 14 Tagen einmal täglich jeweils zur selben Zeit eine parenterale Injektion von 1 mg Testosteronpropionat in 1 ml Sesamöl. Die Injektion erfolgte alternierend in den rechten und linken Musculus pectoralis. Zur Kontrolle wurden einer Gruppe derselben Linie mit gleicher Tierzahl auf die oben beschriebene Weise 1 ml reines Sesamöl injiziert.

3.4 Plasma-Eiweiß-Bindung des Testosterons

3.4.1. Äquilibriumsdialyse

Bei 9 dysgammaglobulinämischen Hähnen im Alter von 6 Monaten bis 1,5 Jahren und bei weißen Leghornhähnen, die 6 Monate bzw. 1 Jahr alt waren, wurden auf die im Punkt 3.1.3. beschriebene Art und Weise Serum gewonnen und über die Äquilibriumsdialyse (Rivarola et al., 1968) die prozentuale Plasma-Eiweiß-Bindung des Testosterons bestimmt: 16 cm lange Dialysierschläuche mit ca. 0,7 cm Durchmesser wurden für eine halbe Stunde in destilliertes Wasser gelegt. Die Serumproben wurden mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 : 5 verdünnt, und 1 ml dieser Verdünnung in die vorher getrockneten Dialysierschläuche gegeben (=Innenlösung). Beidseitig angebrachte doppelte Knoten sollten vor ungewolltem Flüssigkeitsverlust schützen. Die Schläuche plus Innenlösung wurden in ein 50 ml-Gefäß gelegt und 10 ml einer physiologischen Kochsalzlösung, die 40 000 dpm des papierchromatographisch gereinigten ³H markierten Testosterons (bezogen von der Firma Amersham Buchler GmbH & Co Kg. Braunschweig) enthielt, als Außenlösung dazugegeben.

Die anschließend mit Parafilm verschlossenen Gefäße wurden für 15 Stunden in einem 37°C warmen Wasserbad geschüttelt.

Nach Rivarola et al., (1968) wird die Äquilibrierung bereits nach 8 Stunden erreicht und für insgesamt ca. 24 Stunden aufrecht erhalten. Die Serumverdünnung hat den Sinn, daß durch Reduzierung des osmotischen Druckes die Flüssigkeitsmenge im Dialysierschlauch gleich bleibt. 0,5 ml der Innenlösung plus 1,5 ml physiologische Kochsalzlösung bzw. 2 ml der Außenlösung wurden in verschließbare 15 ml Glas-Reagenzgläser überführt, und die Steroide zweimal mit 10 ml Äther extrahiert. Der in Zählgefäße abpipettierte Äther wurde bis zur Trockenheit verdampft. 0,5 ml Methanol lösten den trockenen Rückstand auf, und nach Zusatz von 10 ml einer PPO-Toluol-Scintillationsflüssigkeit, konnte die Radioaktivität in einem β -Zähler (Packard Tri-Carb) gemessen werden.

Die prozentuale Bindung des radioaktiven Steroids an Plasma-Eiweiß wurde über die Formel von Slaunwhite (1960) berechnet:

$$\% \text{ gebundenes Steroid} = 100 * \left(1 - \frac{\text{cpm AL} * \text{Volumen IL}}{\text{cpm IL} * \text{Volumen AL}} \right)$$

wobei: AL = Außenlösung
IL = Innenlösung

Im Falle eines hohen freien Testosteronanteiles im Serum diffundiert entsprechend dem Konzentrationsgefälle wenig ^3H -Testosteron in den Dialysierschlauch, im Falle eines niedrigen Anteils viel.

3.5 Antikörpernachweis

3.5.1. Spermagewinnung

Die Absamung dysgammaglobulinämischer Hähne und von Kontrollhähnen erfolgte durch mehrmaliges Streichen über deren Rücken, wodurch der Ejakulationsreflex ausgelöst wird. Je nach dem späteren Verwendungszweck wurde das Sperma einzelner Hähne getrennt in sterilen Glasröhrchen aufgefangen, oder das Sperma einer Gruppe in einem Glasröhrchen gepoolt.

3.5.2 Immunisierung von Kaninchen gegen Hühnersperma

Gepooltes Sperma von Hähnen der UM B19 Linie bzw. von Kontrollhähnen wurde unter PBS-Zusatz 1:10 und 20 minütiger Zentrifugation bei 250 g dreimal gewaschen. Nach Verdünnung mit aqua destillata im Verhältnis 1:100 in einer Erythrozytenpipette wurde die Spermienzahl in einer Zählkammer nach Bürker-Türk mit Phasenkontrast und 320 facher Vergrößerung ausgewertet.

4 Kaninchen, ca. 3 bis 4 kg schwer, erhielten viermal in 2-wöchigem Abstand eine auf mehrere Stellen verteilte intradermale Injektion von 1 ml einer im Verhältnis 1:2 gemischten Emulsion aus Sperma und komplettem Freund's Adjuvans. Hierbei erhielten 2 Kaninchen bei jeder Injektion ca. 1 Million Spermien dysgammaglobulinämischer Hähne und 2 Kaninchen ca. 1,5 Millionen Spermien der Kontrollhähne. Am 50. Tag nach der ersten Verabreichung wurde von jedem Kaninchen durch Punktion der Ohrvene 10 ml Blut entnommen und zur Serumherstellung genutzt.

3.5.3. Gelatine Agglutinations-Methode (Kibrick et al., 1952)

Serum von dysgammaglobulinämischen Hähnen und solchen der HNL Linie, sowie Serum von Kaninchen, die wie im Punkt 3.5.2. gegen Spermien der jeweiligen Gruppe immunisiert worden waren, wurde von 1:2 bis 1:64 verdünnt, und anschließend 0,3 ml dieser Verdünnung in Eppendorf Reaktionsgefäße gegeben. Um das Komplement zu inaktivieren, wurden die Sera vorher für 30 Minuten im 57°C warmen Wasserbad gehalten.

Nach Herstellung einer physiologischen Kochsalzlösung mit 5 % Gelatineanteil, wurden dieser in PBS gewaschene Spermien zugesetzt und davon 0,3 ml mit einem Gehalt von ca. 500 000 Spermien der dysgammaglobulinämischen bzw. HNL-Hähnen zu den Serumverdünnungen der jeweiligen Hähne oder der immunisierten Kaninchen gegeben. Dem folgte eine einstündige Inkubation im 37°C warmen Wasserbad. Die anschließende makroskopische und mikroskopische Untersuchung der Reaktionsgemische sollte auftretende Flockenbildung bzw. die Anwesenheit agglutiniierter Spermien und somit von spermienagglutinierenden Antikörpern im Serum der Hähne abklären. Das Kaninchenserum diente als positive Kontrolle. Die Serumverdünnung bis 1:64 garantierte dafür, daß Flockenbildung nicht auf unspezifische Agglutination der Spermien zurückzuführen ist.

3.5.4. Mixed antiglobuline reaction (MAR) nach Jager et al. (1978 und 1980)

Frisches gepooltes Ejakulat dysgammaglobulinämischer Hähne und solcher der HNL Linie wurde auf Oberflächenantikörper der IgG, IgM und IgA Klasse untersucht.

Folgende Seren wurden verwendet:

- Ziegen-Anti-Kanirchen IgG (Firma Paesel GmbH und Co., Frankfurt/Main)
- Kaninchen-Anti-Hühner IgG, IgM, und IgA: Alle Seren wurden im Institut affinitätschromatographisch gereinigt und hatten einen Ig-Gehalt von 0,4 mg/ml.

0,5 ml Latex (Dow latex, Trockengewicht 10%, Durchmesser $5,7 \pm 1,5 \mu\text{m}$, von der Firma Sigma Chemie GmbH, Taufkirchen) wurden bei 200 g für 10 Minuten zentrifugiert und anschließend das Sediment 1,5 Stunden bei Raumtemperatur mit 1 ml Ziegen-Anti-Kaninchen IgG inkubiert. Danach wurde das Gemisch erneut zentrifugiert, mit PBS gewaschen und in Earle Salzlösung mit 1 % Rinderserumalbumin bei PH 7,4 resuspendiert.

Das Prinzip der gemischten Antiglobulinreaktion beruht darauf, daß bei Anwesenheit von Oberflächenantikörpern auf den Spermien monospezifisch gegen IgG, IgA oder IgM gerichtete Antikörper mit diesen eine Bindung eingehen und so die Spermien agglutinieren. Um eine solche Reaktion sichtbar zu machen, werden Latexpartikel, die selbst einen gegen diese monospezifischen Antikörper gerichteten Bestandteil tragen, an die Spermien gebunden. Es resultiert ein motiles Agglutinationsgemisch aus Spermien und Latexpartikeln. Falls keine Oberflächenantikörper vorhanden sind, entstehen durch die monospezifischen Antikörper traubenförmige Agglutinationen der Latexpartikel untereinander. Die Motilität der Spermien besitzt nach Aussagen von Jager et al. (1978) einen positiven Einfluß auf die Ausbildung der Aggregate.

Der Test wurde in der Art ausgeführt, daß gleiche Mengen frischen Samens, mit Antikörper gekoppelte Latexpartikel

und monospezifisches Antiglobulin-Antiserum auf einem Objektträger gemischt und auf einem 37°C warmen Mikroskopisch untersucht wurden. Nach den Erfahrungen von Jager (1980) kann der IgG-MAR-Test bereits nach 10 Minuten ausgewertet werden, wogegen der IgA-MAR-Test eine Reaktionszeit von bis zu einer Stunde benötigt. Um dies zu berücksichtigen wurde entsprechend seinen Angaben das IgA- und IgM-Reaktionsgemisch in die Spitze einer Pasteurpipette aufgesogen, um so eine geringere Verdunstung und längere Reaktionszeit zu ermöglichen. In beiden Fällen wurde für eine Warmhaltung bei 37°C gesorgt und das Gemisch alle 10 Minuten untersucht. Der Test wurde ausgewertet sobald sich die Reaktion stabilisiert hatte, d. h. bei noch vorhandener Spermienmotilität haben sich Komplexe aus Latexpartikeln, aus Spermien oder, bei positivem Testergebnis bewegliche Agglutinationsgemische von Spermien und Latexpartikeln gebildet. Die Beurteilung erfolgte in prozentualen Schätzungen der gebildeten Spermien-Partikel-Aggregate von: 0, 0 bis 10, 10, 10 bis 90 und über 90%. Hierbei wird das Auftreten von Aggregaten unter 10% als zweifelhaft, von 10% bis 90% oder über 90% als positiv gewertet, keine gemischten Agglutinationen bedeuten ein eindeutig negatives Testergebnis.

3.5.5. Perfusion der Hoden ¹⁾

Hähne der UM B19 Linie und Kontrolltiere wurden durch intrapulmonale Verabreichung von Narkoren, einem Barbitursäurederivat, getötet. Nach Eröffnung der Brusthöhle sowie der linken Herzvor- und -hauptkammer wurde solange physiologische Kochsalzlösung in die Aorta infundiert, bis kein Blut mehr in den Hodengefäßen zu erkennen war. Anschließend wurden die Hoden aus der Bauchhöhle abpräpariert und bis zum Gebrauch bei -20°C tiefgefroren.

1) Hierbei soll Prof. König vom Institut für Anatomie der Tiere in München für die freundliche Hilfe gedankt werden.

3.5.6. Präparation von Hodenextrakt (Edynak et al., 1971)

Jeweils 1 g perfundierten Hodengewebes von dysgammaglobulinämischen und Kontrollhähnen wurde mit einem Pottergefäß unter Zusatz von PBS, pH 7,2, homogenisiert, und dann bei 250g für 5 Minuten zentrifugiert. Der dabei erhaltene Überstand wurde bei 100 000g für 1,5 Stunden zentrifugiert, wodurch sich wiederum ein Überstand und ein Sediment ergab. Der letzte Überstand wurde lyophilisiert und in 1 ml destilliertem Wasser wieder gelöst. Das Sediment wurde in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert.

3.5.7. Rocket Immunelektrophorese (Laurell, 1966)

Die stationäre Phase dieser Elektrophoresetechnik besteht in einer Agarose-Barbituratpuffer Mischung (1 g Agarose auf 100 ml eines 1 : 5 mit Aqua destillata verdünnten Barbituratpuffers) unter Zusatz von Antiseren, die gegen einen bestimmten Antikörper gerichtet sind. Diese Mischung wird auf entfettete Glasplatten gegossen. Die mobile Phase besteht in dem auf seinen Antikörpergehalt zu untersuchenden Gewebeextrakt, der mittels einer Hamilton-Pipette in bereits vorgestanzte Löcher gegeben wird. Um die Antikörperkonzentration genauer messen zu können, wird das Material vorher serienmäßig mit PBS verdünnt. Die so hergestellten Platten werden in eine mit Barbituratpuffer gefüllte Elektrophoresekammer gegeben. Zur Auswertung des Ig-Gehaltes läuft auf jeder Platte ein verschieden verdünntes Standardserum mit bekannten Antikörperkonzentrationen mit. Durch anschließende Färbung können die entstandenen Rockets sichtbar gemacht und ihre Länge gemessen werden. Der Vergleich mit den Längen der Standards ergibt die in mg/ml angegebene Konzentration.

4. Ergebnisse

4.1. Serum-Testosteron-Spiegel

4.1.1. Diurnaler Serum-Testosteronspiegel von sich in Paarung befindenden dysgammaglobulinämischen Hähnen

Von 7 dysgammaglobulinämischen Hähnen, die sich alle in Paarung befanden, wurde der Tagesverlauf des Serum-Testosteronspiegels bestimmt (siehe Abbildung 2). Unter Rücksichtnahme auf die Licht- und Dunkelphase wurden im 3-stündigen Abstand von 9⁰⁰ Uhr bis 6⁰⁰ Uhr Blutproben entnommen und deren Testosterongehalt bestimmt. Die mittleren Testosteronkonzentrationen sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

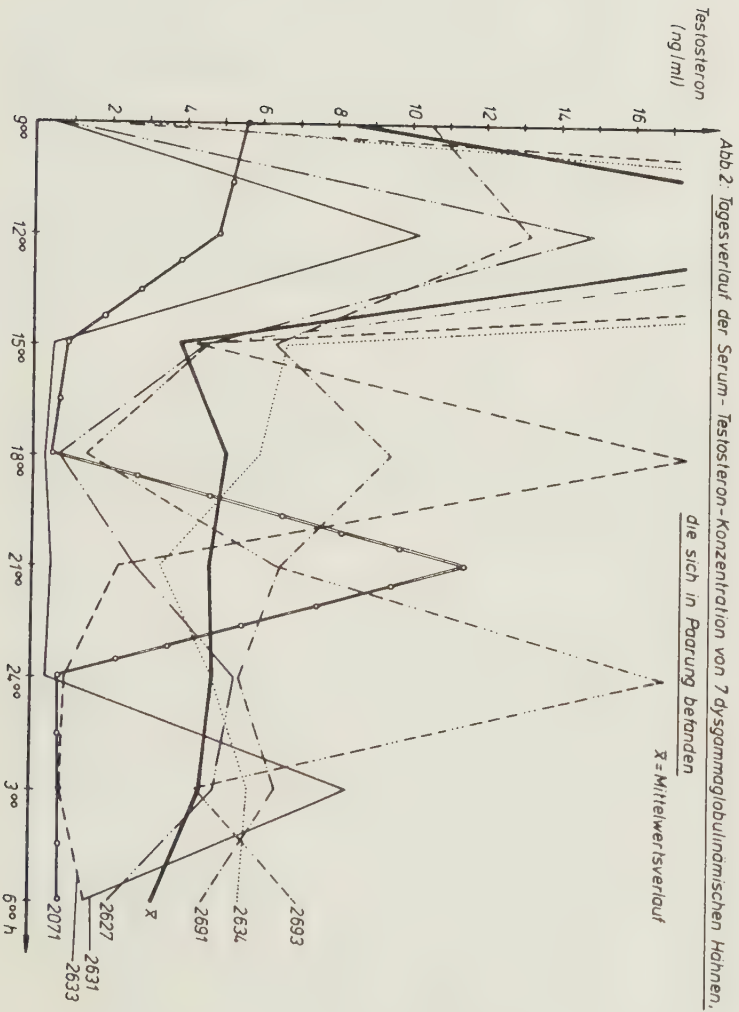
Tabelle 1:

Dysgammaglobulinämische Hähne

Tier Nummer	Testosteron (ng/ml)		
	$\bar{x}$	$\pm$	SD; n=8
2071	3,3	$\pm$	3,8
2627	4,4	$\pm$	4,6
2631	2,7	$\pm$	4,0
2633	8,6	$\pm$	15,4
2634	9,6	$\pm$	15,6
2691	7,3	$\pm$	3,0
2693	16,3	$\pm$	18,3

Bei den Hähnen 2633, 2634 und 2693 lagen die 12⁰⁰ Uhr Werte über dem Meßbereich des RIA, bei Hahn Nr. 2693 auch der 9⁰⁰ Uhr Wert. Durch Verdünnung des Serums konnten die 12⁰⁰ Uhr Konzentrationen dieser Hähne in die Berechnung des Mittelwertes mit einbezogen werden. Der 9⁰⁰ Uhr Wert des Hahnes 2693 lag trotz der Verdünnung so hoch, daß er nicht genau bestimmt werden konnten, weshalb er mit 50 ng/ml in die Berechnung des Mittelwertes einbezogen wurden.

Der diurnale Testosteronspiegel im Serum dysgammaglobulinämischer Hähne zeigt zwischen den einzelnen Entnahmezeiten erhebliche Schwankungen, was auch an den hohen Standardabweichungen der Mittelwerte zu sehen ist. Der offensichtlichste Unterschied liegt zwischen 9⁰⁰ Uhr und 12⁰⁰ Uhr, also in der Zeit, in der den Hähnen Hennen zugesetzt wurden. So steigt bei Hahn Nr. 2634 der Testosteronspiegel von 0,7 ng/ml auf 48,8 ng/ml, bei Hahn Nr. 2933 von 2,5 ng/ml auf 44,8 ng/ml. Es ist kein diurnaler Rhythmus zu erkennen. Die Kurve aus den Mittelwerten ähnelt aber in ihrem Verlauf der von weißen Leghornhähnen, die sich in sexueller Ruhephase befanden. Hanneschläger (1984) gibt für dysgammaglobulinämische Hähne, die lediglich Sichtkontakt zu Hennen hatten, mittlere Serum-Testosteronkonzentrationen von 0,03 ng/ml bis 2,1 ng/ml an. Weiße Leghornhähne, die isoliert von Hennen gehalten wurden, zeigen mittlere Testosteronwerte von 1,1 ng/ml bis 4,5 ng/ml (siehe Tabelle 3). Im Vergleich zu beiden genannten Gruppen sind die mittleren Serum-Testosteron-Konzentrationen dysgammaglobulinämischer Hähne, die sich in Paarung befanden, erhöht.



4.1.2. Vergleich des Serum-Testosteron-Spiegels dysgammaglobulinämischer Hähne in Paarung mit dem nach mehrtägiger sexueller Inaktivität

Dysgammaglobulinämische Hähne hatten für 7 Tage täglich um 10⁰⁰ Uhr für 15 Minuten sexuellen Kontakt zu Hennen. In dieser Zeit wurde der diurnale Serum-Testosteron-Spiegel bestimmt (siehe Abbildung 2). Nach mehreren Tagen sexueller Ruhephase wurde bei ihnen erneut um 9⁰⁰ und 12⁰⁰ Uhr Blut entnommen und die Testosteronkonzentration gemessen. Anschließend wurden diese Werte mit den Entsprechenden aus Versuch 4.1.1 verglichen (siehe Abbildung 3).

In Tabelle 2 werden die 12⁰⁰ Uhr Testosteronkonzentrationen der sich in Paarung bzw. sexueller Ruhephase befindenden Hähne einander gegenübergestellt. Der Vergleich dieser Werte erbrachte, daß bei 6 von 7 Hähnen der Testosterongehalt des Serums in der Paarung signifikant erhöht ist.

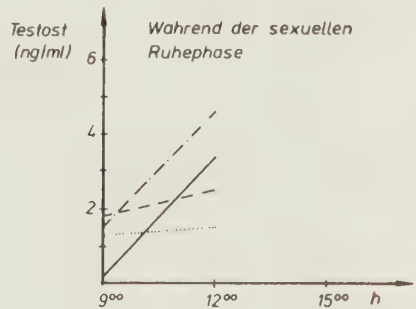
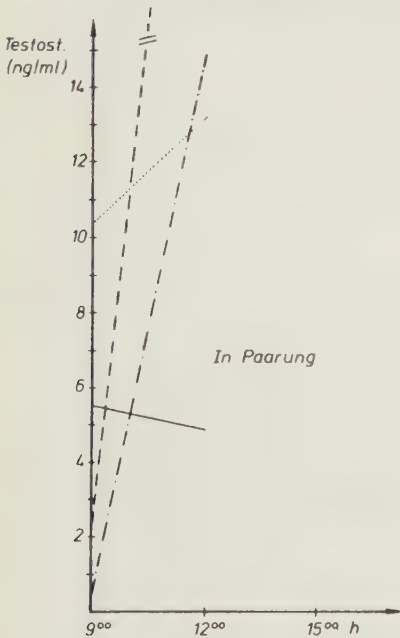
Tabelle 2:

Testosteronkonzentration (ng/ml) dysgammaglobulinämischer Hähne um 12⁰⁰ Uhr

Tier Nr.	In Paarung	In sexueller Ruhephase
2071	4,9	3,4
2627	14,9	4,6
2631	10,2	0,1
2633	44,8	2,5
2634	48,8	1,1
2691	13,2	1,5
2693	39,6	1,5
$\bar{x} \pm SD$	25,3 $\pm$ 18,3	2,1 $\pm$ 1,5

Die Tatsache, daß die Hähne täglich um 10³⁰ Uhr Hennen in den Käfig gesetzt bekamen, bewirkt eine deutliche Erhöhung ihres Serum-Testosteron-Spiegels zwischen 9⁰⁰ Uhr und 12⁰⁰ Uhr bzw. bereits deutlich erhöhte 9⁰⁰ Uhr Werte (siehe Abbildung 3).

Abb. 3 Serum-Testosteron-Spiegel dysgammaglobulinämischer Hähne



4.1.3. Serum-Testosteronwerte dysgammaglobulinämischer Hähne verschiedener Altersstufen

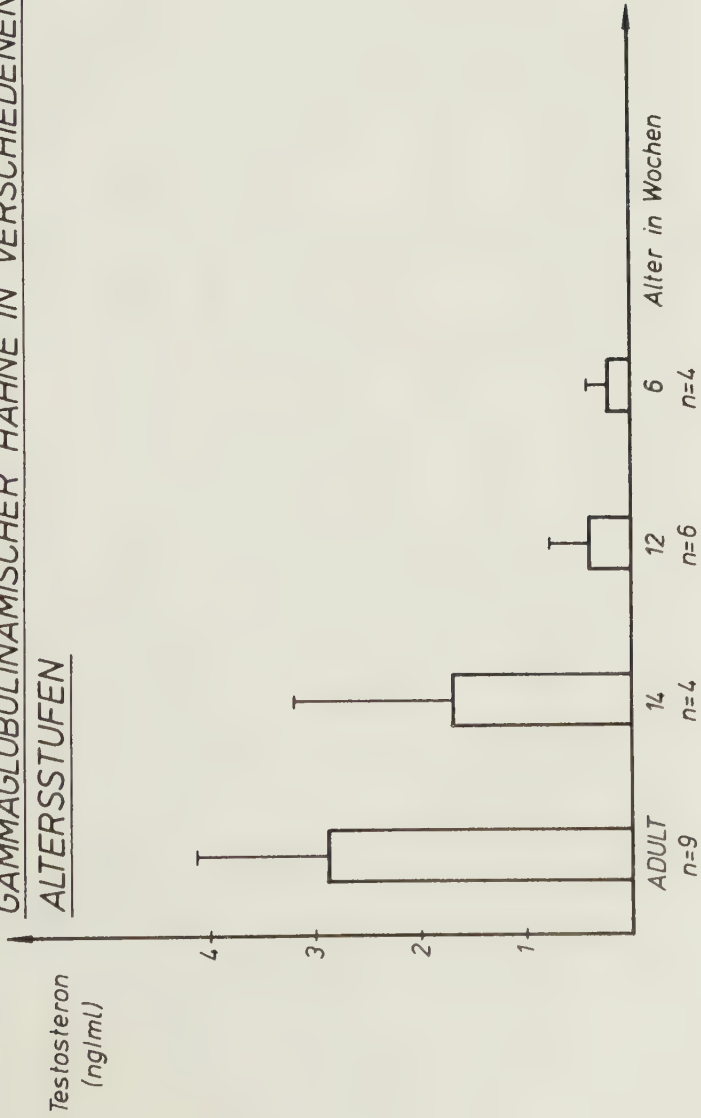
Um die endokrine Funktion der Gonaden bei Hähnen der UM B19 Linie zu überprüfen, wurden mehrere Gruppen verschiedenen Alters auf ihren Serum-Testosteronspiegel hin untersucht. Die adulten Hähnen hatten hierbei keinen Kontakt zu Hennen (siehe Abbildung 4). Gleichzeitig wurde eine Gruppe adulter HNL-Hähne als Kontrolle herangezogen.

Die Mittelwerte der präpubertären dysgammaglobulinämischen Tiere wurden mit solchen aus der Literatur verglichen.

Nach Tanabe et al. (1981) findet man bei Hähnen zwischen der 4. und 13. Woche 0,3 bis 0,8 ng/ml, ab der 14. Woche 1,5 ng/ml, und bei erwachsenen Hähnen ca. 1,5 bis 3,5 ng/ml.

Dysgammaglobulinämische Hähne zeigen mittlere Serum-Testosteronspiegel von 0,2 ng/ml bis 0,4 ng/ml in der 6. bis zur 12. Lebenswoche. Bis zur 14. Woche steigt der Wert auf 1,7 ng/ml, und erreicht bei adulten Tieren Konzentrationen von 2,9 ng/ml. Im Vergleich zu den Literaturangaben und zu den Kontrollhähnen (adult: 2,2 ng/ml) liegen die Testosteronwerte juveniler und adulter dysgammaglobulinämischer Hähne im physiologischen Bereich.

Abb.4: SERUMTESTOSTERON-KONZENTRATIONEN ($\bar{x} \pm SD$) DYS-
GAMMAGLOBULINÄMISCHER HÄHNE IN VERSCHIEDENEN
ALTERSSTUFEN



4.1.4. Diurnaler Serum-Testosteron-Spiegel von Hähnen der HNL Linie, die sich nicht in Paarung befanden

Bei 7 Hähnen der HNL Linie, die keinen Kontakt zu Hennen hatten, wurden im 3-stündigen Abstand von 9⁰⁰ Uhr bis 6⁰⁰ Uhr Blutproben entnommen und auf ihren Serum-Testosteron-Spiegel hin untersucht (siehe Abbildung 5). Die mittleren Testosteronkonzentrationen aus jeweils 8 Proben der einzelnen Hähne sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

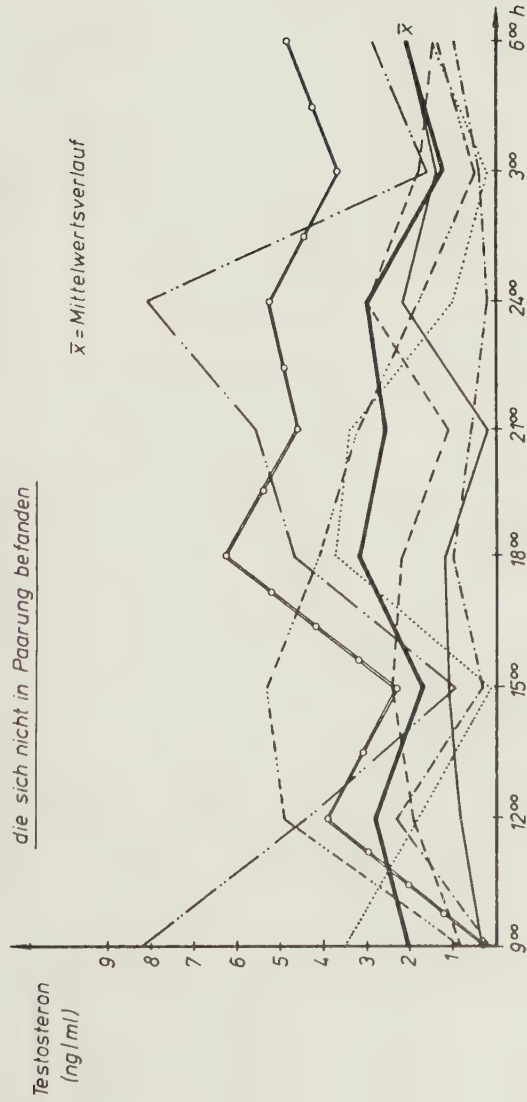
Tabelle 3:

Mittlere Testosteron-Konzentrationen der HNL-Hähne

Tier Nummer	Testosteron (ng/ml)		
	$\bar{x}$	$\pm$	SD; n=8
117	4,4	$\pm$	4,6
157	2,7	$\pm$	1,8
159	1,8	$\pm$	1,4
263	0,6	$\pm$	0,6
669	3,9	$\pm$	1,4
902	1,1	$\pm$	0,8
904	1,9	$\pm$	0,7

Bei den HNL Hähnen sind starke Konzentrationsunterschiede zwischen den Entnahmezeiten festzustellen. Der diurnale Serum-Testosteron-Spiegel zeigt keinen einheitlichen Verlauf. In der Kurve aus den Mittelwerten ist ein Konzentrationsanstieg zwischen 9⁰⁰ und 12⁰⁰ Uhr sowie zwischen 15⁰⁰ und 18⁰⁰ Uhr und 3⁰⁰ und 6⁰⁰ Uhr zu sehen. Zwischen 18⁰⁰ und 24⁰⁰ Uhr ändert sich der Testosteronspiegel nur geringfügig und fällt dann um 3⁰⁰ Uhr ab. Die mittleren Hormonkonzentrationen liegen im Tagesverlauf in dem von Tanabe et al. (1981) angegebenen Bereich von 1 bis 3 ng/ml bzw. übersteigen diesen Bereich nur geringfügig.

Abb.5: Tagesverlauf der Serum-Testosteron-Konzentration von 7 HNL Hähnen,
die sich nicht in Paarung befanden



4.2. Serum-Östrogen-Konzentrationen bei dysgammaglobulinämischen Hähnen

Nach Kalla et al. (1980) bewirken hohe Serum-Östrogen-Spiegel neben einer verminderten LH-Bindung im Hoden eine Reduzierung der testikulären Testosteronbiosynthese. Über den negativen feed back-Mechanismus wird zudem die Gonadotropinausschüttung gehemmt. Zur weiteren endokrinologischen Untersuchung der Fertilitätsstörung dysgammaglobulinämischer Hähne wurden bei 9 adulten und 5 präpuberalen Tieren der Östrogengehalt des Serums bestimmt und daraus der Mittelwert mit Standardabweichung berechnet (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4:

Gruppe n	Adult 9	Präpuberal 5
Östrogen pg/ml		
x $\pm$ SD	5,0 $\pm$ 2,9	1,7 $\pm$ 1,7

Sharp (persönliche Mitteilung) erhielt bei juvenilen Hähnen Werte zwischen 0,5 und 2 pg/ml und bei adulten Hähnen Werte von 5 bis 9 pg/ml. Entsprechend diesen Angaben liegen die Östrogen-Konzentrationen dysgammaglobulinämischer Hähnen im Bereich der Norm. Ein negativer Einfluß auf den Hoden bzw. den Hypothalamus kann somit ausgeschlossen werden.

4.3. Gegenüberstellung der Östrogen- und Testosteron-Konzentrationen im Serum dysgammaglobulinämischer Hähne

Das Hodengewebe besitzt die Fähigkeit unter FSH-Einwirkung Testosteron durch Aromatisierung in 17- β -Östradiol umzuwandeln (Dorrington et al., 1978). Um zu sehen, ob sich dieser Zusammenhang auch im Serum widerspiegelt, wurden die Östrogenwerte dysgammaglobulinämischer Hähne ihren Testosteronkonzentrationen gegenübergestellt; zur Hormonbestimmung wurden jeweils dieselben Blutproben herangezogen (siehe Tabelle 5 und 6) und der Korrelationskoeffizient sowie die Regressionsgerade berechnet (siehe Abbildung 6 und 7).

Tabelle 5:

a) Adulte Hähne:

Tier Nr.	Östrogen (pg/ml)	Testosteron (ng/ml)
2071	7,9	3,3
2601	2,4	2,1
2627	6,15	4,4
2633	0,9	6,1
2634	10,4	6,6
2693	5,7	10,1
3099	3,6	5,1

Mittelwert: $x = 5,386 \pm 2,595$

$y = 5,293 \pm 3,274$

Korrelation $R = 0,17$

Regressionsgerade: $y = 4,135 - 0,215x$

Tabelle 6:

b) Juvenile Hähne

Tier Nr.	Östrogen (pg/ml)	Testosteron (ng/ml)
3100	2,2	1,1
3098	0,5	4,1
3106	0,2	1,0
3111	0,1	0,7

Mittelwert: $x = 1,725 \pm 1,592$

$y = 0,750 \pm 0,981$

Korrelation $R = - 0,093$

Regressionsgerade: $y = 0,849 - 0,057x$

Sowohl bei adulten als auch bei juvenilen Hähnen korrelieren die Testosteronwerte nicht mit den Östrogenkonzentrationen: Hohe Testosteronwerte haben keine entsprechend höheren Östrogenkonzentrationen zur Folge (siehe Tabelle 5 und 6; Abbildung 6 und 7).

Abb 6 und 7: Korrelation der Serum-Testosteron- und Östrogen-Spiegel dysgamma globulinämischer Hähne

Abb 6 Adulte Hähne Korrelation $R=0,17$

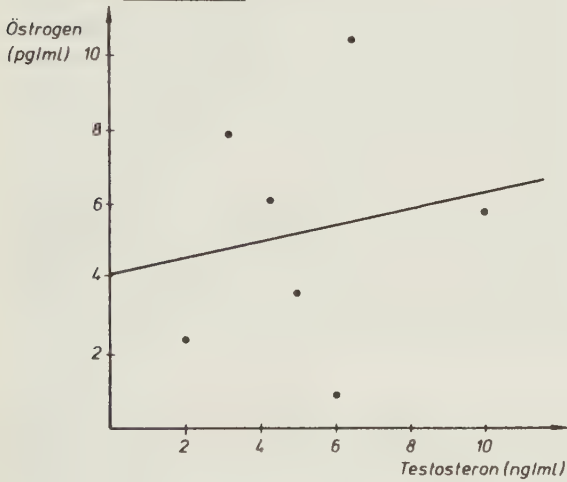
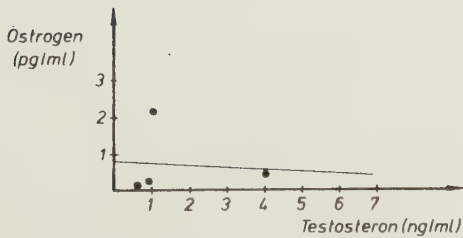


Abb 7 Juvenile Hähne Korrelation $R=0,093$



4.4. Östrogen- und Testosteron-Konzentrationen im Serum von dysgammaglobulinämischen und HNL Hennen

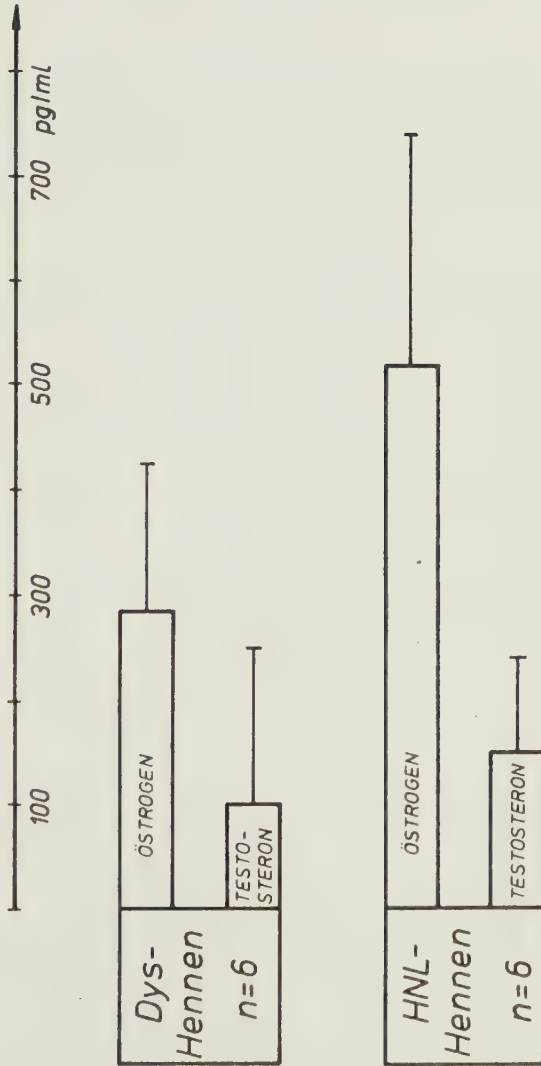
Unphysiologisch hohe Konzentrationen von Östrogen bzw. Testosteron während der sexuellen Differenzierungsphase führen nach Dörner (1972) zu hypogonadotropem Hypogonadismus und zu hypo- oder asexuellem Verhalten.

Um eine extreme hormonelle Beeinflussung des sich entwickelnden Embryos abzuklären, wurde von 6 dysgammaglobulinämischen Hennen, die sich in Legetätigkeit befanden, und 6 HNL-Hennen der Serum-Östrogen und -Testosteron-Spiegel bestimmt (siehe Abbildung 8).

Hennen der UM B19 Linie weichen um 45,1% in ihrem Serum-Östrogengehalt von den HNL Hennen ab. Der gefundene Wert liegt mit 285 pg/ml aber immer noch in dem von der Literatur angegebenen Bereich der Norm.

Die mittlere Testosteronkonzentration des Serums (100 pg/ml) liegt um 33,3 % niedriger als die der HNL Tiere, ist jedoch entsprechend der Literatur ebenfalls physiologisch, d. h. nach Tanabe (1981) im Bereich zwischen 130 und 260 pg/ml.

Abb. 8: Östrogen- und Testosteron-Konzentrationen ($\bar{x} \pm SD$) im Serum von dysgamma-globulinämischen und HNL Hennen während der Legetätigkeit



4.5. Diurnaler Serum-LH-Spiegel präpuberaler dysgammaglobulinämischer Hähne

Um zu überprüfen, ob der Hypogonadismus dysgammaglobulinämischer Hähne aus einer unzureichenden Gonadotropinausschüttung in der Pubertät resultiert, wurde der diurnale Serum-LH-Spiegel von vier 14 Wochen alten Hähnen festgestellt (siehe Abbildung 9).

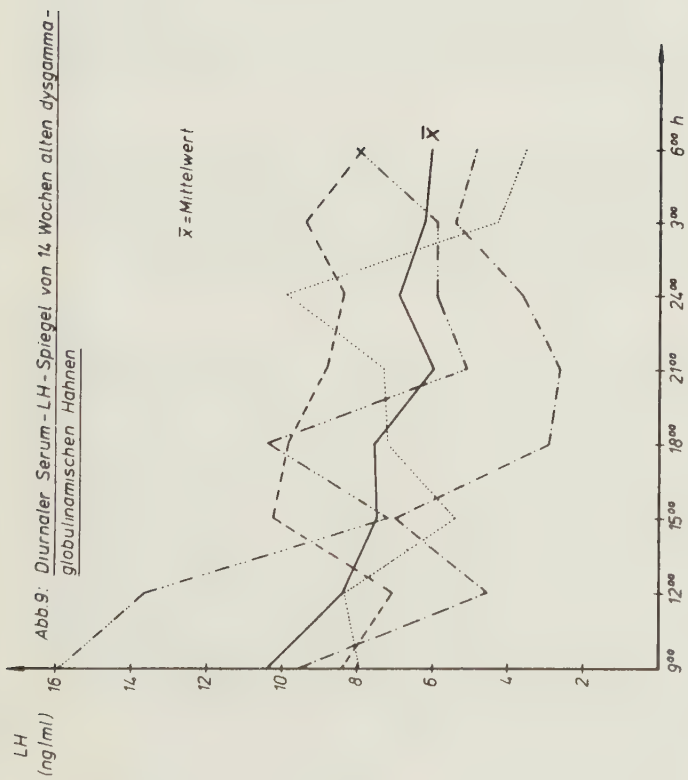
Die mittleren LH-Konzentrationen aus den in 3-stündigen Abständen über 21 Stunden entnommenen Proben sind der Tabelle 7 zu entnehmen.

Für die Einzeltiere ergaben sich folgende Mittelwerte:

Tabelle 7:

Tier Nr.	Proben n	LH (ng/ml)		
		x	±	SD
3098	8	9,1	±	3,9
3100	8	8,7	±	1,0
3106	8	5,1	±	2,2
3111	8	6,8	±	2,1

Die mittlere LH-Konzentration der Hähne 3100, 3106 und 3111 liegen in dem von der Literatur angegebenen Bereich von ,6 bis 8 ng/ml, Hahn 3098 hat mit 10,3 ng/ml einen leicht erhöhten LH-Spiegel. Die Mittelwerte der verschiedenen Blutentnahmezeiten schwanken zwischen 10,4 als höchstem und 6,0 ng/ml als niedrigstem Wert. Bei allen Hähnen sind im 24-Stunden-Tagesverlauf deutliche Amplituden zu erkennen, jedoch zeigt der Vergleich der einzelnen Kurven miteinander starke Abweichungen und somit keinen diurnalen LH-Rhythmus.



4.6. Einfluß parenteraler Testosterongaben auf das Paarungsverhalten

Hühnerembryonen, die mit Testosteronpropionat behandelt wurden, zeigen als geschlechtsreife Hähne ein reduziertes Paarungsverhalten; nach Mashaly und Glick (1979) kann eine Ursache in niedrigen zirkulierenden Testosteron-Spiegeln liegen. Da dysgammaglobulinämische Hähne ebenfalls ein reduziertes bzw. unvollständig ablaufendes Paarungsverhalten zeigen, wurde versucht, durch parenterale Testosteron-Substitution die sexuelle Aktivität dieser Tiere zu stimulieren.

Das Paarungsverhalten wurde nach den Kriterien: Balzen, Tretversuch, Besteigen und Kloakenkontakt unterschieden und aus der Anzahl der auftretenden Verhaltensmuster vor und nach der Behandlung der Mittelwert errechnet (siehe Abbildung 10 und 13).

Sowohl bei den mit Testosteron behandelten Hähnen als auch bei der Kontrollgruppe war während des Versuchszeitraumes ein Anstieg im Balzen und bei den Tretversuchen festzustellen. Dem gegenüber zeigte die Zahl der Besteigungen vor und nach der Therapie bei beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Das Verhältnis der Hähne, die einen vollständigen Paarungsablauf aufwiesen, zu den Hähnen die vor der Kopulation die Paarung abgebrochen hatten (TP Tiere 1:3, Kontrollen 2:2), änderte sich auch nach den Injektionen nicht. Jedoch trat ein einzelner Hahn nach der TP-Verabreichung doppelt so oft als davor (siehe Tabelle 8).

Abb.10-13 Paarungsverhalten dysgammaglobulinämischer Hähne vor und nach parenteraler Testosteronpropionat- bzw. Sesamöl-Verabreichung

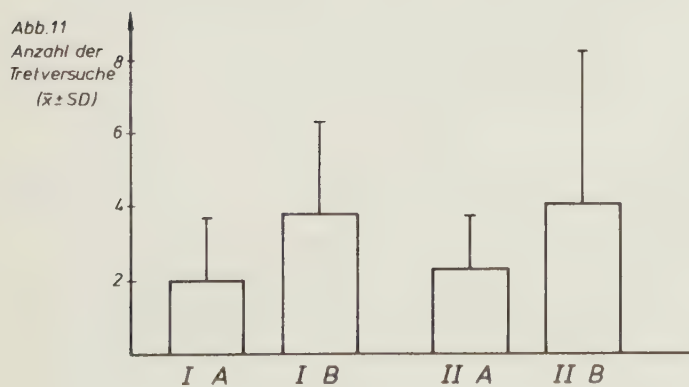
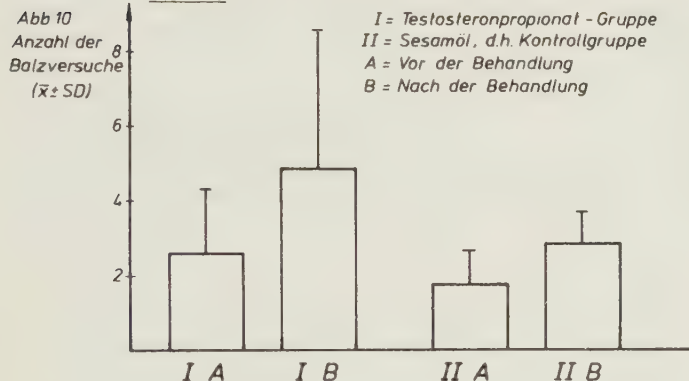


Abb.12:

Anzahl der
Besteigungen
($\bar{x} \pm SD$)

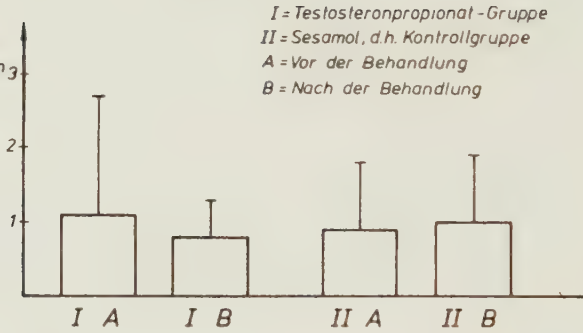


Abb.13.

Anzahl der
Kioaken-
kontakte
($\bar{x} \pm SD$)

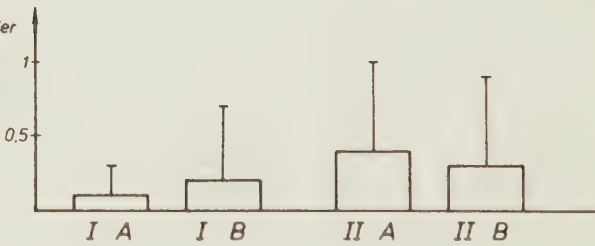


Tabelle 8:

Prozentuale Veränderung des Sexualverhaltens nach TP-
bzw. Öl-Gaben

Gruppe n = 4	Balzen	Tretver- such	Besteigen	Kloakenkon- takt
TP (1 mg/ml/ Tier)	+ 88 %	+ 90 %	- 27 %	+ 100 %
Öl (1 ml/ Tier)	+ 61 %	+ 73 %	+ 11 %	- 27 %

+ = Zunahme

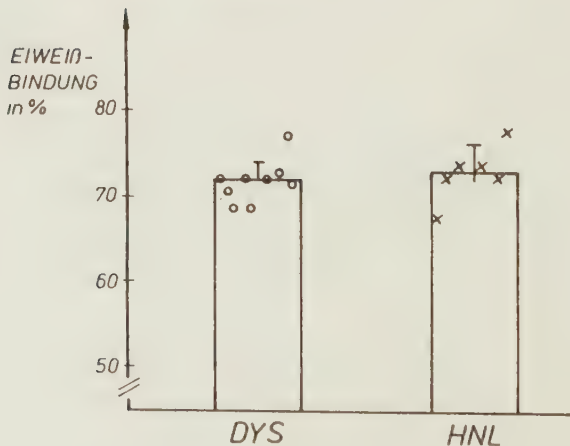
- = Abnahme

4.7. Plasmaeiweißbindung des Testosterons

Um die biologische Verfügbarkeit des Testosterons bei dysgammaglobulinämischen Hähnen zu überprüfen, wurde über die Äquilibriumsdialyse die Plasmaeiweißbindung bestimmt. Zum Vergleich dienten die bei einer Kontrollgruppe von Leghorn-Hähnen ermittelten Werte (siehe Abbildung 14).

Testosteron ist bei dysgammaglobulinämischen zu $72 \% \pm 2$ und bei Kontrollhähnen zu $73 \% \pm 3$ an das Plasmaeiweiß gebunden. Die biologische Verfügbarkeit entspricht somit der der Kontrollgruppe, und ist als physiologisch zu beurteilen.

Abb.14: Prozentuale Plasmaeiweißbindung des Testosterons bei dysgammaglobulinämischen (n=9) und HNL Hähnen (n=6)



4.8. Nachweis von Autoantikörpern

4.8.1. Gemischte Antiglobulin-Reaktion = Mixed antiglobuline reaction (MAR)

Gepooltes Sperma von dysgammaglobulinämischen und Kontrollhähnen wurde mittels der MAR auf Oberflächenantikörper untersucht. Hierbei versucht man Latexpartikel oder einen anderen Zelltyp an die eventuell vorhandenen Oberflächenantikörper zu koppeln (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9:

Zellen bzw. Partikel	Kaninchen-Anti-Hühner		
	IgG	IgM	IgA
Latex	Agglut. positiv	Agglut. positiv	Agglut. positiv
Sperma der Dysgammagl. Hähne + Latex	Agglut. negativ	Agglut. negativ	Agglut. negativ
Sperma der Kontroll- Hähne + Latex	Agglut. negativ	Agglut. negativ	Agglut. negativ

Sowohl bei dysgammaglobulinämischen als auch bei Kontrollhähnen ist das Testergebnis eindeutig als negativ zu bewerten:

- Es können keine gemischten Antiglobulinreaktionen beobachtet werden.
- Die Spermatozoen sind frei beweglich, agglutinieren aber im Laufe der Untersuchung untereinander.
- Die Latexpartikel lagern sich traubenförmig aneinander.

Diese Beobachtungen konnten sowohl bei Zugabe von Kaninchen-Anti-Hühner-IgG als auch bei -IgM und -IgA gemacht werden.

Aus diesem Testergebnis kann man schließen, daß Spermatozoen von dysgammaglobulinämischen und Kontroll-Hähnen keine Oberflächenantikörper besitzen.

4.8.2. Gelatine-Agglutinations-Test (GAT)

Das Serum von individuellen Hähnen der UM B19 Linie und von HNL Hähnen wurde auf spermienagglutinierende Autoantikörper hin untersucht.

In Anwesenheit von Antikörpern bilden sich im Gelatinemedium unterschiedlich große, makroskopisch sichtbare, Flocken, die sich mikroskopisch als agglutinierte Spermien darstellen (siehe Tabelle 10).

Das Serum von dysgammaglobulinämischen und Kontrollhähnen zeigt keine spermienagglutinierenden Autoantikörper. Makroskopisch sind keine Flockenbildungen zu erkennen. Das mikroskopische Bild bestätigt diesen Befund: Neben vereinzelt kleinen agglutinierten Gruppen ist der Hauptteil der Spermien frei beweglich.

Die Kontrolluntersuchung mit Kaninchen Serum, das gegen Spermien der dysgammaglobulinämischen bzw. der Kontroll-Hähnen gerichtet ist, bringt eindeutig positive Ergebnisse:

Im Gelatinemedium sind große Flocken zu sehen, die sich mikroskopisch als "Schwanz-Schwanz" und teilweise als "Schwanz-Kopf" agglutinierte Spermien darstellen.

Da bei allen Untersuchungen das Serum bis 1:64 verdünnt wurde, können unspezifische serumunabhängige Agglutinationen ausgeschlossen werden (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10:

Serum- Verdün- nung	Dysga. Hähne	Kontr. Hähne	Kaninchen-Antiserum	
			1	2
1 : 64	-	-	+	+
1 : 32	-	-	++	++
1 : 16	-	-	++	++
1 : 8	-	-	+++	+++
1 : 4	-	-	+++	+++
1 : 2	-	-	+++	+++
Sperma	Dysg.H.	Kontr.H.	Dysg.Hähne	Kontrollhä.

+, ++, +++ heißt steigend positive Reaktion,
d. h. Agglutination
- heißt negative Reaktion,
d. h. keine Agglutination

1), 2) : Kaninchen-Immunserum gegen Spermien von 1) Dys-
gammaglobulinämischen bzw 2) von Kontroll-Hähnen

4.9. Nachweis von Autoantikörpern im Hodengewebe

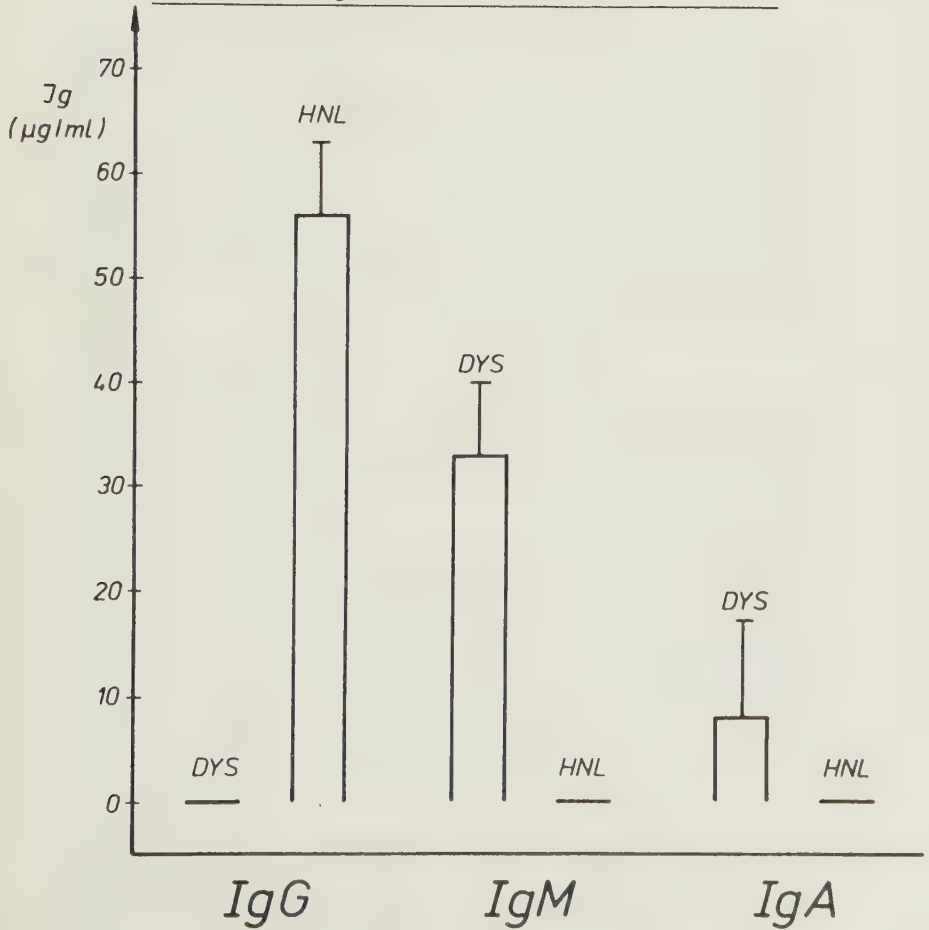
Um den Immunglobulingehalt des Hodengewebes selbst festzustellen, wurden die Hoden von dysgammaglobulinämischen und von weißen Leghornhähnen perfundiert und homogenisiert. Über anschließende Zentrifugation wurden Überstand und Sediment gewonnen, welche mittels Rocket-immunoelektrophorese auf ihren Ig-Gehalt untersucht wurden. Lediglich im Überstand beider Gruppen konnten Immunglobuline nachgewiesen werden.

Von den gefundenen Konzentrationen wurde der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet (siehe Abbildung 16).

Bei der Kontrollgruppe konnten nur Immunglobuline der IgG-Klasse in einer Konzentration von $56 \mu\text{g/ml} \pm 7$ festgestellt werden. IgM und IgA waren nicht nachzuweisen.

Bei den dysgammaglobulinämischen Hähnen fehlte IgG völlig. Dagegen waren $33 \mu\text{g/ml} \pm 7$ IgM und $8 \mu\text{g/ml} \pm 9$ IgA vorhanden.

Abb.15: Immunglobulingehalt ($\bar{x} \pm SD$) im perfundierten Hodengewebe von dysgammaglobulinämischen und HNL Hähnen



5. Diskussion

Die Hähne der UM Bl9 Linie zeigen eine äußerst geringe Fertilitätsrate. In einer dieser Arbeit vorausgegangenen Dissertation (Hannessschläger, 1984) wurde bereits versucht, die Ursachen für die verminderte Fruchtbarkeit zu charakterisieren. Dabei konnte festgestellt werden, daß die Gonaden der Hähne deutlich kleiner als die von Kontrollhähnen waren, und daß die Spermadichte weit unter dem Normbereich lag. Bei voller Ansprechbarkeit der Hypophyse für LHRH und physiologischem LH-Spiegel war jedoch der Testosterongehalt des Serums erniedrigt. Die Spermadichte konnte durch LHRH-Gaben erhöht werden. Nur bei einzelnen Hähnen war ein vollständiger Paarungsablauf zu beobachten.

Von diesen Befunden ausgehend sollte die vorgelegte Arbeit versuchen, mögliche Ursachen einer reduzierten Fertilität abzuklären, um so die Ätiologie weiter eingrenzen zu können.

Unphysiologisch hohe Konzentrationen von Östradiol (Konsanovic et al., 1979) und bzw. oder Testosteron (Haynes und Glick, 1974) während der embryonalen Entwicklungsphase resultieren in hypo- oder asexuellem Verhalten und in einer Verzögerung der testikulären Entwicklung sowie der Spermatogenese. Eine mögliche Ursache hierfür kann in erhöhten Hormonspiegeln der Hennen liegen.

Bei 6 sich in Legetätigkeit befindenden dysgammaglobulinämischen Hennen wurde sowohl der Serum-Östrogen als auch der Testosterongehalt bestimmt. Beide Hormone sind im Vergleich zu den Werten von Kontrolltieren mit 45,1 %

(Östradiol) und 33,3 % (Testosteron) erniedrigt, liegen aber noch in dem von der Literatur angegebenen Bereich von 250 bis 500 bzw. 130 bis 260 pg/ml (Tanabe et al., 1981). Eine negative Beeinflussung des Hühnerembryos durch die Hormone der Henne kann somit ausgeschlossen werden.

Die Entwicklung der Gonaden erfolgt durch die genetische und hormonelle Einwirkung während der sexuellen Differenzierungsphase. Ein Mangel bzw. die Abwesenheit von Androgenen, z. B. durch Enzymschäden der fetalen Keimdrüsen bzw. der NNR, führt zur testikulären Regression oder zu agonadalen Individuen (Edman, 1983). Die dysgammaglobulinämischen Hähne besitzen zwar kleine, aber vollständig entwickelte Hoden; deshalb kann man annehmen, daß die Androgenproduktion für die Gonadenentwicklung ausreichend ist.

Die Fähigkeit der Hoden, Androgene zu produzieren, wurde bei dysgammaglobulinämischen Hähnen durch Messungen des Serum-Testosteron-Spiegels in verschiedenen Altersstufen überprüft. Während in der 4. Lebenswoche noch kein Testosteron nachgewiesen werden konnte, waren in der 6. Woche 0,2 ng/ml und in der 12. Woche 0,43 ng/ml im Serum zu finden. Beim Vergleich dieser Werte mit denen von Tanabe et al., (1981) liegen sie in der 6. Woche im physiologischen Bereich; die Werte der 12. Woche erscheinen erniedrigt, jedoch war hier eine starke Streuung zwischen den einzelnen Tieren von 0,1 ng/ml bis 1,2 ng/ml zu bemerken, so daß man auch hier von physiologischen Konzentrationen sprechen kann. Im Vergleich zu den von Sharp et al. (1977), gefundenen Konzentrationen um 5 ng/ml liegen die Testosteronspiegel weit unter der Norm.

Bei 14 Wochen alten Hähnen, die sich kurz vor der Pubertät befanden, wurden sowohl die Testosteron- als auch die LH-Spiegel bestimmt. Um auch hier eine tageszeitliche Abhängigkeit der Ausschüttung zu überprüfen, wurde im Abstand von 3 Stunden unter Berücksichtigung der Licht- und Dunkelphase Blut entnommen und der LH-Spiegel gemessen. Hierbei zeigte sich, daß die Hypophyse LH in physiologischen Konzentrationen produzieren kann, jedoch läßt sich kein diurnaler Rhythmus feststellen. Das gonadotrope Hormon wird an die Leydigzellmembran gekoppelt, wo es die zur Testosteronsynthese notwendige Enzymreaktionen induziert. Bei 14 Wochen alten Hähnen der UM B19 Linie können durchschnittliche Testosteronwerte von 1,7 ng/ml gemessen werden. Die einzelnen Werte streuen hierbei von 0,7 ng/ml bis 4,1 ng/ml. Bei 14 Wochen alten Hähnen geben Sharp et al. (1977) und Tanabe et al. (1981) einen Wert um 1,5 ng/ml an. Stützt man sich auf die neueren Ergebnisse von Tanabe et al. (1981), kann man sagen, daß die Gonaden, d. h. die Leydigzellen, der untersuchten Hähne in ausreichendem Maße Testosteron synthetisieren. Die Hypophysen-Gonaden-Funktion scheint bis zu diesem Zeitpunkt intakt zu sein. Der Eintritt der Pubertät wird durch die hohen LH Mittelwerte der einzelnen Tiere (5,1 bis 9,1 ng/ml) und den steigenden Testosterongehalt des Serums eingeleitet. Der Hypogonadismus der dysgammaglobulinämischen Hähne wird somit nicht durch mangelnde LH- oder Testosteronkonzentrationen verursacht.

Da nach Dym et al., (1979) ein FSH-Mangel bei unreifen Ratten kleinere Hoden, verringerte Durchmesser der Tubuli seminiferi und eine geringere Anzahl von Spermatozyten und Spermatiden verursacht, könnte eine Untersuchung des FSH-Spiegels bei juvenilen dysgammaglobulinämischen Hähnen vielleicht nähere Aufschlüsse über den vorliegenden Hypogonadismus liefern.

Blutproben geschlechtsreifer Hähne der UM B19 Linie wurden zusammen mit denen von Kontrollhähnen auf ihren Testosterongehalt hin untersucht. Der Mittelwert von 9 dysgammaglobulinämischen Hähnen beträgt 2,9 ng/ml. Der Mittelwert der Kontrollhähne liegt bei 2,2 ng/ml. Entsprechend der Literaturangabe von Tanabe et al. (1981), wonach adulte Hähne Konzentrationen von 1 bis 3,5 ng/ml aufweisen, und im Vergleich zu den Kontrollhähnen befinden sich die Testosteron-Spiegel im Normbereich.

Dysgammaglobulinämische Hähne zeigen keinen diurnalen Rhythmus in der Serum-Testosteron-Konzentration (Hanneschläger, 1984; siehe auch Abbildung 2). Da es noch keine Literaturangaben über die tageszeitliche Testosteronproduktion bei Hähnen gibt, wurden als Kontrollgruppe weiße Leghornhähne, die keinen Kontakt zu Hennen hatten, auf ihre diurnalen Serum-Testosteron-Werte hin untersucht (siehe Abbildung 4). Da auch hier zwischen den einzelnen Hähnen kein einheitlicher Verlauf der Hormonkonzentrationen vorliegt, muß man annehmen, daß Hähne allgemein Testosteron nicht in einer diurnalen Rhythmizität produzieren. Vergleicht man jedoch die mittlere Testosteronkurve sich paarender dysgammaglobulinämischer Hähne mit der von weißen Leghornhähnen, die zu dieser Zeit sexuell inaktiv waren, so ist ein ähnlicher Verlauf beider Kurven festzustellen (siehe Abbildung 2 und 4). Dysgammaglobulinämische Hähne, denen täglich um 10³⁰ Uhr Hennen zugesetzt wurden, zeigen um 12⁰⁰ Uhr signifikant höhere Testosteronkonzentrationen als in der sexuellen Ruhephase (siehe Tabelle 2). Auch im weiteren Tagesverlauf sind ihre Hormonkonzentrationen im Vergleich zu sexuell inaktiven Tieren erhöht (Hanneschläger, 1984; siehe auch Abbildung 2). Über Hähne gibt es noch keine Literaturangaben, die von einem positiven Einfluß des Paarungsverhaltens auf die Testosteronausschüttung

berichten. Bamberg et al., (1976) stellten fest, daß bei Stieren der Testosterongehalt im Serum unmittelbar nach dem Sprung auf das Doppelte ansteigt. Auch beim Kaninchen (Haltmeyer und Eik-Nes, 1969) sowie beim Eber (Liptrap und Raeside, 1978) steigt der Testosteronspiegel im Serum während oder nach dem Paarungsakt. Bei dysgamma-globulinämischen Hähnen scheint sexuelle Aktivität ebenfalls im Hypothalamus die Ausschüttung von LH und damit die Testosteronproduktion zu stimulieren. Bemerkenswert ist, daß bei Hähnen der UM Bl9 Linie der Testosterongehalt des Serums nach der Paarung bzw. den Paarungsversuchen auf Werte bis 48,8 ng/ml ansteigt. Beim Stier (Bamberg et al., 1976) und beim Kaninchen (Haltmeyer und Eik-Nes, 1969) ist eine Zunahme um das Doppelte, beim Eber sogar um das 5- und 10-fache (Liptrap und Raeside, 1978) der normalen Konzentration festzustellen. Ein weiterführender Versuch, in dem der Testosterongehalt bei sich in Paarung befindenden Kontrollhähnen gemessen wird, könnte eine Aussage darüber machen, ob sich die Hormonwerte der dysgamma-globulinämischen Hähne noch im physiologischen Bereich befinden.

Cunningham und Mitarbeiter (1977) selektierten Linien von Wachteln nach ihrer unterschiedlichen sexuellen Aktivität. Von jeder Linie wurden Tiere kapaunisiert. Die Kapaune und die intakten Tiere, die als Kontrollen dienten, wurden mit Testosteron behandelt und anschließend wurde das Paarungsverhalten beobachtet. Hierbei stellte sich heraus, daß Kapaunisierung das Sexualverhalten eliminiert und daß Testosterongaben es wieder herstellen können; dabei paarten sich jedoch die Kapaune jeder Linie nie so oft wie die intakten Tiere ihrer Gruppe. Bei den nicht kapaunisierten Tiere mit hoher Paarungsaktivität hatten die Testosterongaben einen depressiven Einfluß auf das Sexualverhalten, Tiere mit

niedriger Aktivität wurden überhaupt nicht beeinflusst. Entsprechend ihren Ergebnissen vertreten die Autoren die Meinung von Mc Collom et al., (1971), daß das Nervensystem entscheidend für das Sexualverhalten ist; die Sexualhormone müssen hier einen bestimmten Schwellenwert erreichen, um eine effektive Antwort hervorrufen zu können. Endogene Androgenkonzentrationen hätten keinen Einfluß auf die Paarungsaktivität.

Zwei Gruppen mit je 4 dysgammaglobulinämischen Hähnen gleichen Alters wurden für 7 Tage täglich 15 Minuten mit je zwei Hennen zusammengesetzt. Das Paarungsverhalten wurde nach den Kriterien: Balzen, Tretversuch, Besteigen der Hennen und Besteigen mit Kloakenkontakt unterteilt und notiert. In beiden Gruppen befanden sich Hähne, die lediglich Balzen und Tretversuche zeigten, sowie Hähne, die die Henne bestiegen, und solche, die den Paarungsakt bis zum Kloakenkontakt ausführten. Nach 14 tägiger TP-Injektion wurde das Paarungsverhalten für 7 Tage beobachtet, und nach den oben genannten Kriterien beurteilt. Die Ergebnisse sind der Tabelle 8 zu entnehmen. Da nach Barfield (1969) Testosteron zwar die Kopulation, nicht aber das Balzverhalten beeinflusst, könnte die TP-Verabreichung eine Zunahme der Kloakenkontakte ermöglichen. Der Effekt der TP-Behandlung dysgammaglobulinämischer Hähne war jedoch folgendermaßen: Bei drei Hähnen, die vor der TP-Gabe nur unvollständigen Paarungsablauf zeigten, war auch nachher kein Kloakenkontakt festzustellen. Das Verhaltensmuster dieser Tiere hatte sich nicht verändert. Lediglich bei einem Hahn, bei dem vor der Therapie bereits die sexuellen motorischen Reaktionsweisen vollständig abliefen, erhöhte sich die Zahl der Kloakenkontakte um das Doppelte. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu denen von Cunningham et al. (1977), die die Zahl der Kopulationen

bei Wachteln durch parenterale Testosterongaben nicht steigern konnten. Da diese Steigerung im Falle der dysgammaglobulinämischen Hähne nur bei einem Tier festgestellt werden konnte, ist das Ergebnis nicht als repräsentativ zu bewerten. Für eine positive Beeinflussung des Kopulationsverhaltens durch exogenes Testosteron könnte in diesem Versuch die Tatsache sprechen, daß sich bei den mit Öl behandelten Hähnen die Zahl der Kopulationen verringerte. Aus den erhaltenen Ergebnissen kann man schließen, daß eine Testosterontherapie fehlendes Kopulationsverhalten nicht wiederherstellt. Die Ursache liegt nicht im endogenen Androgenspiegel, sondern in einer mangelnden Ansprechbarkeit des Erotisierungszentrums. Jedoch scheint es möglich zu sein, vorhandenes Kopulationsverhalten durch exogenes Testosteron zu steigern.

Um weiterhin abzuklären, ob das reduzierte Paarungsverhalten von der zirkulierenden Testosteronmenge abhängt, wurde über die Äquilibriumsdialyse die Plasma-Eiweiß-Bindung des Testosterons, und damit seine biologische Verfügbarkeit untersucht: Während z. B. bei Primaten Testosteron an ein β -Globulin, dem Sex-hormone-binding-globuline gebunden wird, kann eine solche Bindung beim Geflügel nicht nachgewiesen werden; hier ist hauptsächlich das Albumin für die Regulierung des freien Testosteronanteiles im Blut zuständig (Corvol und Bardin, 1973). Beim Menschen beträgt die Albuminbindung ca. 78 % (Sandberg, 1976), beim Geflügel gibt es diesbezüglich noch keine Literaturangaben.

Bei 9 dysgammaglobulinämischen Hähnen und 7 Kontrolltieren ergaben sich Werte von durchschnittlich 72 % Bindung bei den UM B 19 Hähnen und 73% Bindung bei den Kon-

trolltieren. Die biologische Verfügbarkeit des Testosterons dysgammaglobulinämischer Hähne unterscheidet sich somit nicht von den Werten der Kontrollgruppe. Die im Blut zur Verfügung stehende freie Testosteronmenge müßte dementsprechend ausreichen, um ein normales Paarungsverhalten induzieren zu können.

Durch den Testosterontherapieversuch und durch die Bestimmung der Plasma-Eiweiß-Bindung sowie durch die hohen ermittelten Testosteronspiegel nach der Paarung konnte gezeigt werden, daß das mangelhafte bzw. unvollständige Paarungsverhalten nicht durch zu wenig ungebundenes Testosteron verursacht wird.

Hähne, die am 3. Tag der Embryogenese mit TP behandelt wurden, zeigen ein fehlerhaftes Paarungsverhalten; Haynes und Glick (1974) stellten fest, daß Hähne, die spezifisch in der Area präoptica und im Corpus mammillaris des Hypothalamus lädiert wurden, ein reduziertes Paarungsverhalten zeigen. Hohe TP-Konzentrationen zur Zeit der Embryogenese scheinen hier eine schädigende Wirkung zu besitzen.

Die geschlechtsspezifische Entwicklung dieser Zentren im Hypothalamus wird durch Sexualsteroiden induziert (Toran-Allerbrand, 1976) und ist beim Geflügel am 13. Entwicklungstag der Embryogenese abgeschlossen (Wilson und Glick, 1970). Die Wirkung der Steroide wird dabei durch ihre Metaboliten (Massa et al., 1977) vermittelt, die die Freisetzung spezifischer Neurotransmitter bewirken (Dörner, 1976). Hypothalamische Differenzierungsstörungen können ihre Ursache in einer genetisch bedingten ungenügenden Ansprechbarkeit des Hypothalamus auf physiologische Testosteronkonzentrationen haben oder durch zu geringe bzw. zu hohe Androgenkonzentrationen verursacht

werden (Dörner, 1972). Bei geringer Androgenkonzentration resultiert weibliches, bei hoher dagegen hypo- oder asexuelles Paarungsverhalten (Dörner, 1972). Dysgammaglobulinämische Hähne zeigen unvollständiges bzw. reduziertes, aber maskulines Sexualverhalten. Da als Ursache eine niedrige zirkulierende Testosteronmenge ausgeschlossen werden kann, muß man annehmen, daß die Störung in einer fehlerhaften Differenzierung des Hypothalamus während der sexuellen Entwicklungsphase liegt.

Ob der Grund dafür genetisch bedingt ist, oder in unphysiologisch hohen Androgenmengen liegt, konnte durch die vorgelegten Versuche nicht herausgefunden werden. Offen steht ebenfalls die Art der Störung, die in mangelnder Rezeptorenbindung, fehlerhafter Metabolisierung oder Neurotransmitterfreisetzung begründet sein kann.

Eine Ursache könnte in einer übermäßigen Testosteronproduktion der Nebennierenrinde des Hühnerembryos während der sexuellen Differenzierungsphase liegen.

Zwei Befunde sprechen dafür, daß dysgammaglobulinämische Hühner als Embryonen eventuell besonderen Belastungen ausgesetzt sind:

- Die keimfreie Aufzucht von Küken dysgammaglobulinämischer Elterntiere führt ausnahmslos zu normogammaglobulinämischen Hühnern, wenn die Dauer der keimfreien Haltung die erste Lebenswoche übersteigt (Kühlmann-Rabens et al., 1985), d. h. die Ausschaltung der antigenen Umweltbelastung in der 1. Lebenswoche gibt diesen Küken die Chance, immunologisch auszureifen und eine physiologische Hypothalamus- und Gonadenfunktion auszubilden.

- Dysgammaglobulinämische Hennen transferieren praktisch kein IgG in die Eifollikel, so daß im Ei permanent dysgammaglobulinämischer Hennen der IgG-Antikörperschutz entfällt (Lösch, 1972; Schraner et al. 1985).

Beide Umstände geben Hinweise dafür, daß sich der entwickelnde Embryo in einer Stresssituation befindet, die eine erhöhte ACTH- und NNR-Hormonfreisetzung zur Folge haben kann. Da beim Hühnerembryo die NNR hauptsächlich für die Testosteronproduktion verantwortlich ist (Tanabe et al., 1979) wird in einer Stresssituation das Sexualhormon ebenfalls vermehrt ausgeschüttet. Erhöhte Androgenspiegel führen neben einer Störung der Hypothalamusdifferenzierung (Dörner, 1972) auch zur Entwicklungshemmung der Follikel in der Bursa Fabricii mit dem Resultat, daß so beeinflusste Embryonen als Erwachsene kein IgG bilden können (Hirota et al., 1976). Eine Untersuchung der embryonalen NNR auf Größe und Steroidgehalt bis zum 13. Entwicklungstag könnte weiteren Aufschluß über das Problem der mit Fertilitätsstörungen gekoppelten Dysgammaglobulinämie geben.

Trotz der normalen bis hohen Serum-Testosteron-Konzentrationen produzieren dysgammaglobulinämische Hähne zu wenig Spermien. Eine mögliche Ursache kann in der ungenügenden Synthese des Androgen-binding-Proteins liegen. Dieses Protein wird unter Testosteron- (Dym et al., 1979) und FSH-Einwirkung in den Sertolizellen gebildet (Means et al., 1976), und konzentriert Androgene in den Samenkanälchen (Ritzen et al., 1978). Das von den Leydigzellen in genügendem Maße produzierte Testosteron würde so verstärkt in den Blutkreislauf abgegeben und metabolisiert werden. Falls Testosteron nur ungenügend um die Germinativzellen angereichert wurde, besäße es

eine reduzierte Wirkung auf die Spermatogenese mit dem Resultat einer Hypozoospermie.

Die Ursachen für einen potentiellen ABP-Mangel sind:

- Eine reduzierte FSH-Ausschüttung. Dieser Faktor könnte in einem weiterführenden Versuch durch Bestimmung des Serum-FSH-Gehaltes abgeklärt werden.
- Eine defekte Kopplung des Testosterons an die Rezeptoren der Sertolizellen.
- Ein Enzymdefekt der Sertolizellen; in diesem Falle wäre auch die Inhibinsynthese erniedrigt, was über einen erhöhten Serum-FSH-Gehalt nachzuweisen wäre (Franchimont et al., 1978).

In einem Versuch von Hanneschläger (1984) konnte gezeigt werden, daß bei dysgammaglobulinämischen Hähnen nach LH-RH-Gaben sowohl der Testosterongehalt des Serums als auch die Spermadichte ansteigen. Da das Releasing-Hormon jedoch auch die FSH-Ausschüttung aus der Hypophyse induziert, könnte die erhöhte Spermienproduktion das Resultat der durch FSH bewirkten ABP-Bildung sein.

Für eine mangelnde Testosteronkonzentrierung in den Samenkanälchen, d. h. auch in den Sertolizellen, spricht die Tatsache, daß trotz der hohen Testosteronproduktion die Sertolizellen nicht entsprechend mehr Testosteron zu Östradiol umwandeln. Zwischen den Östrogen- und Testosteronwerten im Serum dysgammaglobulinämischer Hähne besteht keine Korrelation (siehe Abbildung 6 und 7). Hohe Testosteronspiegel haben keine entsprechend hohen Östradiolkonzentrationen zur Folge.

Die bei adulten und juvenilen dysgammaglobulinämischen Hähnen gefundenen mittleren Östrogenwerte liegen mit 5,0

pg/ml (adult) und 1,7 pg/ml (juvenil) in dem von Sharp angegebenen Bereich von 5 - 9 pg/ml bei geschlechtsreifen, und 0,5 bis 2,0 pg/ml bei präpupalen Hähnen. Bemerkenswert ist die extreme Abweichung der Konzentrationen unter den einzelnen erwachsenen Tieren (siehe Tabelle 4). Bei den Junghähnen ist die Abweichung nicht so deutlich ausgeprägt. Da jedoch die Blutproben zu verschiedenen Zeiten genommen wurden, müssen auch hier, wie bei den Testosteronwerten, tageszeitliche Unterschiede in der Produktion angenommen werden. Der physiologische Bereich der Östrogenspiegel schließt eine unnormale inhibitorische Wirkung auf die LH- bzw. FSH-Ausschüttung über das negative feed-back-System aus. Auch die direkte Einwirkung auf die Testosteronsynthese im Hoden kann somit als physiologisch betrachtet werden.

Zwischen den gonadalen Steroiden und dem Immunsystem besteht eine enger Zusammenhang: Hühnerembryonen können durch Androgenbehandlung hormonell bursektomiert werden, bzw. unterdrücken hohe Androgenkonzentrationen bei diesen Tieren die Reifung bestimmter B-Lymphozyten. In letzterem Fall können diese Tiere gegen bakterielle Antigene zwar IgM-Antikörper bilden, die Produktion von IgG bleibt jedoch aus (Hirota et al, 1976). Bei den T-Lymphozyten stimulieren Androgene die Migration aus den Kapillaren (Viken, 1976) und somit die zelluläre Immunantwort, was gleichzeitig eine Steigerung autoimmuner Reaktionen bewirken kann (Grossman, 1984).

Das Hodengewebe verhindert normalerweise den Kontakt antigenen Materials der Spermatogenese bzw. Spermatiden mit dem Abwehrsystem des Blutkreislaufs durch die Ausbildung der Blut-Hoden-Schranke (Dym und Fawcett, 1970) oder durch Eliminierung in den Abführgängen durch Spermatophagie (Aire und Malmquist, 1979). Antikörper des

Blutkreislaufes haben in geringem Maße Zutritt zu den Spermien im Rete testis (Johnson und Satchell, 1968; Koskimies et al., 1971).

Bei dysgammaglobulinämischen Hühnern liegt keine Bildung von IgG-Antikörpern vor. Eine Androgen bedingte Ursache konnte bisher noch nicht abgeklärt werden. Es lag somit nahe, die Hypozoospermie auf eine Autoimmunreaktion zurückzuführen.

Obwohl die Germinativzellen durch die Blut-Hoden-Schranke (Dym and Fawcett, 1970) vor dem Eindringen von Autoantikörpern in die Samenkanälchen geschützt sind, können Antikörper das Rete testis permeieren (Johnson und Satchell, 1968). Falls es sich hierbei um immunkompetente, gegen Germinativzellen gerichtete Autoantikörper handelt, kommt es zur Schädigung der Spermatiden und evtl. deren Vorstufen (Freund et al., 1953).

Die perfundierten Hoden von dysgammaglobulinämischen und weißen Leghornhähnen wurden auf ihren Immunglobulinhalt untersucht. In den Hoden der Kontrollhähne konnte nur Immunglobulin G in einer Konzentration von 0,056 mg/ml nachgewiesen werden. Im Hodengewebe der dysgammaglobulinämischen Hähne konnten demgegenüber kein IgG, dafür IgM (0,033 mg/ml) und IgA (0,009 mg/ml) erfaßt werden. Bemerkenswert ist, daß bei den Kontrolltieren IgM- und IgA-Moleküle die Kapillaren des Hodens wahrscheinlich auf Grund ihrer Größe und Konzentration nicht verlassen können. Dysgammaglobulinämische Tiere besitzen einen erhöhten Serum IgM- und IgA-Spiegel (Schraner et al., 1985), so daß die Konzentration die Ursache für den erhöhten Permeationsdruck sein kann. Auf Grund der ähnlichen Ig-Gesamtkonzentration im Hoden der dysgammaglobulinämischen und der Kontrollhähne kann man annehmen,

daß bei den Hähnen der UM B19 Linie die Blut-Hoden-Schranke intakt ist, und nicht durch eine potentielle Autoimmunreaktion geschädigt wurde.

Bei den Antikörpern, die direkt gegen Spermien gerichtet sind, unterscheidet man solche mit beispielsweise agglutinierender, immobilisierender oder zytotoxischer Wirkung. Spermien agglutinierende Antikörper können im Serum gesunder Tiere in niedriger Konzentration gefunden werden; eine Titererhöhung über 1:2 läßt auf eine Autoimmunreaktion schließen (Shulman et al., 1971). Durch ihre verklumpende Wirkung führen diese Antikörper zu einer erniedrigten Spermienbeweglichkeit im weiblichen Genitaltrakt und damit zu geringeren Befruchtungsergebnissen. Immobilisierende Antikörper schädigen ebenfalls die Fortbewegung, während die zytotoxischen die Zahl der befruchtungsfähigen Spermien reduzieren. Letztere verursachen im Hodengewebe pathologische Veränderungen, wie z. B.: Atrophien, mit daraus resultierendem Hypogonadismus (Hamerlynck und Rümke, 1968).

Rümke und Hellings (1959) fanden bei Patienten mit erniedrigter Spermiedichte und -motilität fast immer agglutinierende Antikörper, wobei der Titer im Serum höher als im Seminalplasma war. Meistens besteht eine Korrelation zwischen Spermienagglutination und Spermatotoxizität und Hypogonadismus (Hamerlynck und Rümke, 1968).

Bei dysgammaglobulinämischen Hähnen ist die Spermadichte und -motilität erniedrigt; zudem weisen diese Tiere auch signifikant kleinere Gonaden als HNL-Hähne auf (Lösch, 1972; Hanneschläger, 1984).

Über den Gelatine-Agglutinations-Test (Kibrick et al., 1952) wurde das Serum von Hähnen der UM B19 Linie auf

Spermien agglutinierende Antikörper untersucht (siehe Tabelle 10). Die generelle Anwesenheit von Oberflächenantikörpern auf der Spermienmembran wurde mit der "Mixed antiglobuline reaction" überprüft (Jager et al., 1978 und 1980; siehe Tabelle 9). Bei beiden Versuchen war das Ergebnis negativ. Die niedrige Befruchtungsrate, die Hypozoospermie, sowie der Hypogonadismus dysgammaglobulinämischer Hähne sind nicht die Folgen einer Autoimmunerkrankheit.

Die Ursache für die Hypozoospermie dysgammaglobulinämischer Hähne liegt nicht in einem Mangel an biologisch verfügbarem Testosteron, sondern in seiner reduzierten Wirksamkeit. So besteht die Annahme, daß auf Grund eines ABP-Mangels Testosteron nicht in ausreichendem Maße in den Samenkanälchen konzentriert wird.

Bei präpuberalen Hähnen der UM Bl9 Linie liegen die LH-Spiegel im physiologischen Bereich, so daß ein auf dieses Hormon bezogener hypogonadotroper Hypogonadismus ausgeschlossen werden kann. Da sowohl für das Einsetzen und die Aufrechterhaltung der Spermatogenese als auch für das Hodenwachstum die Anwesenheit von FSH erforderlich ist, sollte in einer weiterführenden Arbeit dieses Hormon bei juvenilen und adulten Hähnen quantitativ bestimmt werden. Eine Unterdrückung der Gonadotropinausschüttung durch unphysiologisch hohe Östrogen- bzw. Testosteronkonzentrationen ist jedoch nicht gegeben.

Die geringe Spermiedichte und der Hypogonadismus sind nicht der Ausdruck für eine Autoimmunreaktion.

Endogene Testosteron-Spiegel im Serum haben bei dysgammaglobulinämischen Hähnen keinen Einfluß auf den vollständigen Ablauf des Paarungsverhalten. Die Ursache

für die festgestellte Verhaltensstörung scheint in einer genetisch bedingten mangelhaften Ansprechbarkeit des Sexualzentrums für Testosteron zu liegen, oder, hohe Androgenspiegel haben während der sexuellen Differenzierungsphase zu einer Entwicklungsstörung des Sexualzentrums im Hypothalamus geführt. Den Sexualhormon-Spiegeln der Hennen kommt dabei keine Bedeutung zu. Die quantitative Bestimmung des Androgengehaltes in der NNR von Hühnerembryonen dysgammaglobulinämischer Hennen könnte darüber Aufschluß geben, ob der Immunsystemdefekt dieser Hühnerlinie die niedrige Fertilitätsrate zur Folge hat.

6. Zusammenfassung

Endokrinologische und immunologische Untersuchung der reduzierten Fertilität dysgammaglobulinämischer Hähne der UM B19 Linie.

Das Thema dieser Dissertation war die Untersuchung der reduzierten Fertilität dysgammaglobulinämischer Hähne. Einzeluntersuchungen an adulten und juvenilen dysgammaglobulinämischen Hähnen verschiedener Altersstufen zeigten, daß die Serum-Testosteron-Spiegel in dem von der Literatur angegebenen Bereichen der Norm liegen. Dem entsprechen auch die physiologischen LH-Werte praepuberaler Tiere. Nach der Paarung erhöhen sich die Testosteronkonzentrationen im Serum auf über das 10fache. Über 24 Stunden vorgenommene Testosteronbestimmungen zeigen zwischen den einzelnen Entnahmezeiten starke Schwankungen. Die Kurve aus den Mittelwerten ähnelt in ihrem Verlauf der von weißen Leghornhähnen. Die physiologischen bzw. in der Paarung erhöhten Testosteronkonzentrationen lassen darauf schließen, daß die Hypozoospermie dysgammaglobulinämischer Hähne nicht das Resultat eines Testosteronmangels sein kann. Es besteht jedoch die Vermutung, daß dieses Hormon eventuell auf Grund eines Androgen-binding-Protein-Defizits nicht ausreichend in den Sertolizellen bzw. um die Germinativzellen konzentriert wird und deshalb verstärkt in die Blutbahn gelangt. Hierfür spricht auch, daß trotz hoher Testosteronspiegel die Sertolizellen nicht entsprechend mehr Testosteron zu Östrogen umwandeln. Die Östrogenkonzentrationen im Serum adulter und juveniler dysgammaglobulinämischer Hähne korrelieren nicht mit den Testosteronkonzentrationen, sie liegen aber im Bereich der Norm. Eine übermäßige negative Beeinflussung der LH- und FSH-Ausschüttung kann somit ausgeschlossen werden.

Der Versuch, nicht vorhandenes Kopulationsverhalten bei Hähnen der UM B19 Linie durch parenterale Testosteron-Propionat-Gaben hervorzurufen verlief negativ.

Auch die Vermutung, daß das unvollständige Paarungsverhalten aus einer erhöhten Plasma-Eiweiß-Bindung, d. h. einer verminderten biologischen Verfügbarkeit des Testosterons resultiert, konnte nicht bestätigt werden: Hähne der UM B19 Linie und HNL Linie zeigen prozentual eine gleichhohe Bindung an das Plasma-Eiweiß.

Die Ursache für das unvollständige Paarungsverhalten liegt somit nicht am endogenen Testosteronspiegel, sondern an einer Störung der als Erotisierungszentrum bezeichneten Teile des Hypothalamus. Die Untersuchung des Serum-Östrogen- und Testosteronwertes sich in Legetätigkeit befindender dysgammaglobulinämischer Hennen erbrachte keine Besonderheiten. Eine negative Beeinflussung des Hühnerembryos während der sexuellen Differenzierungsphase durch erhöhte Hormonspiegel der Henne ist nicht gegeben.

Hohe Androgen-Konzentrationen üben beim Hühnerembryo einen negativen Einfluß auf die sexuelle Differenzierung und auf die Entwicklung des Immunsystems aus. Beim erwachsenen Tier können sie Autoimmunkrankheiten hervorrufen. Weder das Hodengewebe noch das Sperma dysgammaglobulinämischer Hähne weisen Anzeichen einer Autoimmunkrankheit auf.

Da das gestörte Paarungsverhalten durch einen Androgenüberschuß beim Hühnerembryo hervorgerufen werden kann, es jedoch durch eine keimfreie, d. h. streßfreie Haltung des Kükens wenigstens in der ersten Entwicklungswoche vermieden wird, wäre es sinnvoll, in

einer weiterführenden Arbeit den Androgengehalt der NNR beim Hühnerembryo vor dem 13. Entwicklungstag zu bestimmen.

7. Summary

Endocrinologic and immunologic research for the reduced fertility of dysgammaglobulinemic cockerels of the UM B19 line.

The object of this work was the research for the reduced fertility of the dysgammaglobulinemic cockerels: Singular hormone measurements of adult and young dysgammaglobulinemic cockerels of various ages showed normal plasma testosterone levels. Even the LH value in the plasma of young cockerels were in the normal range. After mating the testosterone concentration of the plasma rose up to ten fold. Measurement of the testosterone values over a period of 24 hours showed strong differences between the single concentrations. The plot of the middle values is similar to this of a control group. Because of the normal levels and during mating high testosterone levels, it seems that the hypo-zoospermia of these cockerels is not the result of low endogenous testosterone. Nevertheless, it may be that this hormone - due to an androgen-binding-protein deficiency - is not concentrated enough around the germ cells and so it is delivered into the blood circulation. The fact that there is a high testosterone level but the Sertoli cells don't synthetisize more estrogen from testosterone supports this hypothesis. The estrogen values of adult and young cockerels don't correlate with that of testosterone, but they are in the normal range. A nonphysiological *negative influence of the LH and FSH liberation from the pituitary is not given.

The attempt to induce complete copulatory behaviour in cockerels from the UM B19 line by exogenous testosterone was not successful. The theory that the uncompleted

mating behaviour is the result of a high plasma-protein-binding of the testosterone could not be supported. Dys-gammaglobulinemic cockerels and such of a control group showed the same percentage of plasma-protein-binding. The reason for the deficient mating trials seems to be a disturbed sexual centre of the hypothalamus.

The measurement of the plasma estrogen and testosterone concentrations of laying hens of the UM B19 line didn't show any particularity; so a negative influence of the chicken embryo during the sexual differentiation period is not given.

High androgen concentrations disturb the development of the sexual differentiation and of the immune system in the chicken embryo. In the adult animals they can produce autoimmunity. Neither the semen nor the tissue of the testes exhibit any signs of an autoimmunity. Because an androgen overshoot can induce deficient mating behaviour, but it can be avoided by a stress free environment during the first week of chicken development, it could be important in an other dissertation to look for the androgen concentration in the adrenal cortex chicken embryo before the 13th day of development.

8. Literaturverzeichnis

1. Aire T. A. and Malmquist M., 1979
Intraepithelial Lymphocytes in the Excurrent Ducts
of the Testis of the Domestic Fowl (Gallus
Domesticus) Acta anat., 103, 142
2. Alonso, A., Bueno, M. F., Scacciati, J. Gonzalez, N.
and Mancini, R., 1969
Serological Reactivity of Homologous and Heterologous
Antitesticular Antiserum against Diffenent Guinea
Pig Testicular Antigens
Acta europ. Fertil., 1, 459
3. Ascoli M. and Puett D., 1977
Intracellular Uptake and Metabolism of Luteotropin
by Testicular Tissue in Vitro
FEBS Lett. 75, 77
4. Bamberg, E., Rittmansperger, F., Jettmar, W. und
Choi, H., 1976
Untersuchungen über den Einfluß von Fütterung und
Abstammung auf den Testosterongehalt im Plasma des
Stieres vor und nach dem Sprung
Wiener tierärztl. Monatsschr. 63, 294
5. Bandhauer, K., 1966
Immunoreaktionen bei Fertilitätsstörungen des Mannes
Urol. Int., 21, 247
6. Bandhauer, K., 1982
Immunologic Causes of Male Fertility Disoders
In: Disturbances in Male Fertility (Eds.: Bandhauer,
K. and Frick, G.)
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 281

7. Barfield, R. J., 1969
Activation of Copulatory Behavior by Androgen
Implanted into the Preoptic Area of the Male Fowl
Horm. Behav., 1, 37
8. Barrera, C., Mazzolli, A. and Mancini, R., 1976
Cytophilic Activity in Experimental Immunological
Orchitis in Guinea Pigs
Fertil. Steril., 27, 21
9. Bishop, D., 1969
Sorbitol Dehydrogenase. Enzymatic Antigen and Assay
for Induced Aspermatogenesis
In: International Convocation on Immunology
(Eds.: Rose, N. and Milgrom, F.), Karger, S.,
New York, 334
10. Bongiovanni, A. M. and Root, A. W., 1963
The Androgenital Syndrome
N. Engl. J. Med., 268, 1342
11. Bruecker, H., 1975
Saisonbedingte Involution der Spermatogenese beim
Schwan
Verh. Anat. Ges., 69, 733
12. Catt, K. J. and Dufau, M. L., 1978
Gonadotropin Receptors and Regulation of Interstitial
Cell Function in the Testis
In: Receptors and Hormone Action Voll III
(Eds.: Birnbaumer L. and O'Malley B.), Academic
Press, New York, 291
13. Clare, D. and Edman, M., 1983
Testicular Regression Syndrome
Semin. Reprod. Endocrinol., 1, No. 2, 129

14. Connell, G., Connell, C. and Eik-Nes, K., 1966
Testosterone Synthesis by the Two Day Old Chicken
Testis in Vitro
Gen. Comp. Endocrinol., 7, 158
15. Corvol P. and Eardin C. W., 1973
Species Distribution of Testosterone-Binding-Globulin
Biol. Reprod., 8, 277
16. Crawford W. C. and Glick B., 1975
The Function of the Preoptic, Mammillaris Lateralis
and Ruber Nuclei in Normal and Sexual Inactive Male
Chickens
Physiol. Behav., 15, 171
17. Cunningham, D. Siegel, P. and Van Krey, H., 1977
Androgen Influence on Mating Behaviour in Selected
Lines of Japanese Quail
Horm. Behav., 8, 166
18. Cusan, L., Purvis, K., Gordeladze, J., Jahnsen, T.
and Hansson, V., 1981
Gonadotropin Regulation of Testicular Target Cell
Function and Response
In: Oligozoospermia: Recent Progress in Andrology
(Eds.: Frajese, G., Hafez, E., Conti, C. and
Fabbrini, A.), Raven Press, New York, p. 105
19. Davidson J. M., 1977
Neurohormonal Bases of Male Sexual Behavior
In: Reproductive Physiology II., Int. Rev. of
Physiol. Vol. 13 (Ed.: Greep, R. O.), Baltimore,
University Park Press, 225
20. Döcke, F., 1981
Keimdrüsen
In: Veterinärmedizinische Endokrinologie
(Ed.: Döcke, F.), VEB G. Fischer Verlag, Jena, 393

21. Dörner, G., 1972
Die Sexualhormonabhängige Organisation des Hypothalamus
In: Sexualhormonabhängige Gehirndifferenzierung und Sexualität (Ed.: Dörner, G.) Springer Verlag
Wien, New York, 97
22. Dörner, G., 1976
The Hypothalamic-Hypophyseal-Gonadal System
In: Hormones and Brain Differentiation (Ed.: Dörner G.), Elsevier Scientific Publishing Company,
Amsterdam - Oxford - New York, 1
23. Dorrington, J., Fritz, I. and Armstrong, D., 1978
Control of Testicular Estrogen Synthesis
Biol. Reprod. 18, 55
24. Dufau, M., Hsueh, A., Cigorruga, S., Baukal, A. and Catt, K., 1978
Inhibition of Leydig Cell Function through Hormonal Regulatory Mechanisms
Int. J. Androl., Suppl. 2, 193
25. Dym M. and Fawcett D. M., 1970
The Blood-Testis Barrier in the Rat and the Physiological Compartmentation of the Seminiferous Epithelium
Biol. Reprod., 3, 308
26. Dym M. and Rcmrell L. J., 1975
Intraepithelial Lymphocytes in the Male Reproductive Tract of Rats and Rhesus Monkeys
J. Reprod. Fertil., 42, 1
27. Dym M., 1976
The Mammalian Rete Testis - A Morphological Examination
Anat. Rec., 186, 493

28. Dym, M., Raj, H., Lin, Y., Clemens, H., Kotite, N.,
Nayfeh, S. and French, F., 1979
Is FSH Required for Maintenance of Spermatogenesis
in Adult Rats?
J. Reprod. Fertil., Suppl. 26, 175
29. Edynak, E., Lardis, M. and Vrana, M., 1971
Antigenic Changes in Human Breast Neoplasia
Cancer, 28, 1457
30. Erickson, R., 1971
Alternative Modes of Detection of H-2 Antigens on
Mouse Spermatozoa
In: Proc. Int. Symp.: The Genetics of the Sperma-
tozoon, Edinburgh (Eds.: Beatty, R. and Glueck-
schn-Waelsch, S.), Bogtrykkeriet Forum, Copen-
hagen, 191
31. Evret, T., Zhivkov, R., Popivanov, R., Kehayov, I.,
Podoplelov, I., Glynsky, A. and Kruykov, V., 1973
Immunological Studies on Some Isoenzymes of Testis
and Spermatozoa
In: Proc. IIInd. Int. Symp. on Immunol. of Reprod.
(Eds.: Bratanov, K., Edwards, R., Vulchanov, V.,
Dikov, V. and Somlev, B.), Bulgarian Academy of
Science Press, 228
32. Fiedler, H., Lösch, U. and Hala, K., 1980
Establishment of a B-Compatible Chicken Line with
Normogammaglobulinemia and Dysgammaglobulinemia
Folia biol. (Praha), 26, 17
33. Franchimont, P., Demoulin, A., Verstraelen-Proyard,
Hazez-Hagelstein, M., Walton, J. and Waites, G., 1978
Nature and Mechanisms of Action of Inhibin: Perspec-
tive in Regulation of Male Fertility
In: Endocrine Approach to Male Contraception, (Eds.:
Hansson, V., Ritzén, E., Purvis, K. and French,
F.), Scriptor Copenhagen, 69

34. Freund, J., Lipton, M. and Thompson, G., 1953
Aspermatogenesis in Guinea Pig Induced by Testicular
Tissue and Adjuvant
J. exp. Med., 97, 711
35. Freund, J., Thompson, G. and Lipton, M., 1955
Aspermatogenesis, Anaphylaxis and Cutaneous Sensi-
tization Induced in Guinea Pigs by Homologous Testi-
cular Extract
J. exp. Med., 101, 591
36. Gondos, B., 1980
Development and Differentiation of the Testis and
Male Reproductive Tract
In: Testicular Development, Structure and Function
(Eds.: Steinberger, A. and Steingerger, E.),
Raven Press, New York, 3
37. Green, H. and Silverblatt, F., 1960
Effect of Antibody and Complement on Volume Control
in an Ascites Tumor Cell
Nature, 186, 646
38. Grossman, C., 1984
Regulation of the Immune System by Sex Steroids
Endocr. Rev., 5, No. 3, 435
39. Grychtolik, H., Klimmt, G. and Dörner G., 1971
Zur Diagnose und Differentialdiagnose des Androgeni-
talen Syndroms mit Hilfe des ACTH-Tests
Dtsch. Gesundheitswesen, 1016
40. Hadarag, E. and Bunanciu, P., 1976
The Transaminase and Aldolase Activity of Turkey
Semen
XX World Vet. Congr. Proc. 2, 958

41. Hall, P., Charponnier, C. and Gabbiani, G., 1980
Role of Actin in the Response of Leydig Cells to LH
Ir: Testicular Development, Structure and Function
(Eds.: Steinberger, A. and Steinberger, E.),
Raven Press, New York, 229
42. Haltmeyer G. C. und Eik-Nes K. B., 1969
Plasma Levels of Testosterone in Male Rabbits Following Copulation
J. Reprod. Fertil., 19, 273
43. Hamerlynck, J. and Rümke, P., 1968
Spermatotoxic Antibodies in Man
J. Reprod. Fertil., 17, 191
44. Hanneschläger, L., 1984
Untersuchungen über die Fertilität dysgammaglobulinämischer Hähne der UM B19 Linie
Dissertation, München
45. Hansson, V., Purvis, K., Ritzen, E. und French, F., 1978
Hormonale Regulation der Spermatogenese: Mechanismus und Ort der Wirkung verschiedener Hormone am Hoden
In: Physiologie und Pathophysiologie der Hodenfunktion (Eds.: Senge, T., Neumann, F. and Schenk, B.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 49
46. Harris, G. W., 1964
Sex Hormones, Brain Development and Brain Function
Endocrinology, 75, 627
47. Haynes, R. L. and Glick, B., 1974
Hypothalamic Control of Sexual Behavior in the Chicken
Poultry Science 53, 27

48. Hirota, Y., Suzuki, T., Chazono, Y. and Bito, Y., 1976
Humoral Immune Responses Characteristics of Testosterone Propionate treated Chickens
Immunology, 30, 341
49. Hoffer, A., Hamilton, D. and Fawcett, D., 1975
Phagozytosis of Spermatozoa by the Epithelial Cells of the Ductuli Efferentes after Epididymal Obstruction in the Rat
J. Reprod. Fertil., 44, 1
50. Holstein, A. F., 1978
Spermatophagy in the Seminiferous Tubules and Excurrent Ducts of the Testis in the Rhesus Monkey and in Man
Andrologia 10, 331
51. Jager, S., Kremer, J. and van Slochteren-Draaisma, T., 1978
A simple Method of Screening for Antisperm Antibodies in the Human Male. Detection of Spermatozoal Surface IgG with the Direct Mixed Antiglobuline Reaction Carried out on Untreated Fresh Human Semen.
Int. J. Fertil., 23, 12
52. Jager, S., Kremer, J., Kuiken, J. and van Slochteren-Draaisma, T., 1980
Immunglobuline Class of Antispermatozoal Antibodies from Infertile Men and Inhibition of in Vitro Sperm Penetration into Cervical Mucus
Int. J. Androl., 3, 1
53. Johnson M. H. and Setchell B. P., 1968
Protein and Immunglobulin Content of Rete Testis Fluid of Rams
J. Reprod. Fertil., 17, 403

54. Kalla, N., Nisula, B., Menard, R. and Loriaux, D., 1980
The Effect of Estradiol on Testicular Testosterone Biosynthesis
Endocrinology, 106, 35
55. Katsh, S., 1960
The Anaphylactogenicity of Testicular Hyaluronidase and a Species Difference in Testicular Hyaluronidase Demonstrated by Isolated Organ Anaphylaxis
Int. Arch. Allergy, 17, 70
56. Katsh, S., Aguirre, A., Laever, F. and Katsh, G., 1972
Purification and Partial Characterization of Aspermatogenic Antigen
Fertil. Steril., 23, 644
57. Ketelslegers, J., Hsueh, A., Hetzel, W. and Catt, K., 1976
Induction of Luteinizing Hormone Receptors and LH Sensitivity in the Immature Rat Testis by Follicle Stimulating Hormone
5th Int. Congr. Endocrinol., Hamburg, Abstract 519
58. Kibrick, S., Belding, D. and Merrill, B., 1952
Methods for the Detection of Antibodies Against Mammalian Spermatozoa. II A Gelatine Agglutination Test
Fertil. Steril., 3, 419
59. Knight and Taber, 1977; nach Döcke, F., 1981
Keimdrüsen
In: Veterinärmedizinische Endokrinologie (Ed.: Döcke, F.) VEB G. Fischer Verlag, Jena, 417
60. Kosanovic, M., Pantic, V. and Sijacki, N., 1979
Long Term Effect of Estradiol on the Development of Rooster Testes
Acta vet. (Beograd), 29, No. 5, 207

61. Koskimies, A., Kormanio, M. and Lahti, A., 1971
A Difference in the Immunglobulin Content of Seminiferous Tubule Fluid and Rete Testis Fluid of the Rat
J. Reprod. Fertil., 27, 463
62. Kühlmann-Rabens, I., Wanke, R., Storandt, F., Altmann, B., Lösch, U. and Merckenschlager, M., 1985
Immunomodulation in UM B19 Chickens
63. Lacroix, M., Smith, F. and Fritz, J., 1977
Secretion of Plasminogen Activator by Sertoli Cell Enriched Cultures
Mol. Cell. Endocr., 9, 227
64. Lamb, D., Tsai, Y.-H., Steinberger, A. and Sandborn, E., 1981
Sertoli Cell Nuclear Transcriptional Activity: Stimulation by FSH and Testosterone in Vitro
Endocrinology, 108, 1020
65. Laurell, C.-B., 1966
Quantitative Estimation of Proteins by Elektrophoresis in Agarose Gel Containing Antibodies
Anal. Biochem., 15, 45
66. Leslie, G., Wilson, H. and Clem, L., 1971
Studies on the Secretory Immunologic System of the Fowl
J. Immunol., 106, No. 5, 1441
67. Liptrap, R. M. and Raeside, J. I., 1978
A Relationship between Plasma Concentrations of Testosterone and Corticosteroids during Sexual and Aggressive Behaviour in the Ecar
J. Endocr., 76, 294

68. Lösch, U., 1972
Zur Charakterisierung einer erblichen Dysgammaglobulinämie
Habilitationsschrift, München
69. Lustig, L., Denduchis, B., Gonzalez, N. and Mancini, R., 1973
Chemical and Immunologic Study of Rat Seminiferous Tubule Wall Structures
Acta physiol. lat. Am., 23, 101
70. Mancini, R. E., Castro, A. and Seigner, A., 1967
Histologic Localisation of FSH and LH in the Rat Testis
J. Histochem. Cytochem. 15, 516
71. Mancini, R., Monastrirsky, R., Fernandez-Collazo, E., Seigner, A. and Alonso, A., 1969
Cytotoxic Action of Antispermatic Antibodies upon Homologous Germinal Cells "in vitro"
Fertil. Steril., 20, 779
72. Martinez-Vargas, M., Gibson, D., Sar, M. and Stumpf, W., 1975
Estrogen Target Sites in the Brain of the Chick Embryo
Science, 190, 1307
73. Martini L., 1978
Role of the Metabolism of Steroid Hormones in the Brain in Sex Differentiation and Sexual Maturation
In: Hormones and Brain Development (Eds.: Dörner G. and Kavakami, M.), Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 3
74. Mashaly, M. and Click, B., 1979
Comparison of Androgen Levels in Normal Males (*Gallus Domesticus*) and in Males Made Sexually Inactive by Embryonic Exposure to Testosterone Propionate
Gen. Comp. Endocrinol., 38, 105

75. Massa, R. Cresti, L. and Martini, L., 1977
Metabolism of Testosterone in the Anterior Pituitary
Gland and the Central Nervous System of the European
Starling (*Sturnus Vulgaris*)
J. Endocr., 75, 347
76. McCollom, R. E., Siegel, P. and van Krey, H., 1971
Responses to Androgen in Lines of Chickens Selected
for Mating Behavior
Horm. Behav. 2, 31
77. Means, A. R. and Vaitukaitis, J., 1972
Peptide Hormone Receptors: Specific binding of ³H
FSH to Testis
Endocrinology 90, 39
78. Means, A. R., 1975
Biochemical Effects of FSH on the Testis
Handbook of Physiology, Sect. 7 Endocrinol., 5
79. Means, A., Fakunding, J., Huckins, C., Tindall, D.
and Vitale, R., 1976
Follicle Stimulating Hormone, the Sertoli Cell and
Spermatogenesis
Recent. Progr. Horm. Res., 32, 477
80. Means, A., Dedman, J., Fakunding, J. and Tindall, D.,
1978 a
Mechanism of Action of Follicle Stimulation Hormone
in the Male Rat
In: *Receptors and Hormone Action*, Vol. III (Eds.:
Birnbaumer, L. and O'Malley, B.) Academic Press,
New York, 363
81. Means, A., Dedman, J., Tindall, D. Welsh, M., 1978 b
Hormonal Regulation of Sertoli Cells
In: *Endocrine Approach to Male Contraception* (Eds.:
Hansson, V., Ritzén, E., Purvis, K. and French,
F.), Scriptor, Copenhagen, 403

82. Metz, C., O'Rand, M. and Cordle, C., 1976
Agglutination and Immobilization of Human Spermatozoa
In: Human Semen and Fertility Regulation in Men
(Ed.: Hafez, E.), CV Mosby Co., St. Louis, 276
83. Michael, S., Taguchi, O., Nishizuka, Y., Mc Clure,
I., Goldstein, A. and Barkley, M., 1981
The Effects of Neonatal Thymectomy on Early Follicular
Loss and Circulation Levels of Corticosterone,
Progesterone, Estradiol and Thymosin
In: Dynamics of Ovarian Function (Eds.: Schwartz, N.
and Hunzicker-Dunn, M.), Raven Press, New York, 279
84. Motta, M., Celotti, F. and Martini, L., 1981
Control and Biological Significance of Testosterone
Metabolism in Androgen Sensitive Structures
In: Oligozoospermia: Recent Progress in Andrology
(Eds.: Frajese, G., Hafez, E., Conti, C. and
Fabbrini, A.), Raven Press, New York, 155
85. Ohno, S., 1976
Major Regulatory Genes for Mammalian Sexual Development
Cell, 7, 315
86. Orth J. and Christensen, A. K., 1978
Autoradiographic Localisation of Specifically-Bound
 I^{125} Labeled FSH on Spermatogonia of the Rat Testis
Endocrinology, 103, 1944
87. Osmani, D. I. and Plöen, L., 1978
The Terminal Segment of the Seminiferous Tubules and
the Blood Testis Barrier Before and After Efferent
Ductule Ligation in the Rat
Int. J. Androl. 1, 235

88. Osman, D. I., 1980
The Connection Between the Seminiferous Tubules and the Rete Testis in the Domestic Fowl (*Gallus Domesticus*) A Morphological Study
Int. J. Androl. 3, 177
89. Osman, D., Ekwall, H. and Plöen, L., 1980
Specialized Cell Contacts and the Blood Testis Barrier in the Seminiferous Tubules of the Domestic Fowl (*Gallus Domesticus*)
Int. J. Androl. 3, 553
90. Purvis, K., Clausen, O. and Hansson, V., 1979
Androgen Effects on Fat Leydig Cells
Biol. Reprod., 20, 304
91. Rautenfeld von, B., Budras, D. und Grassmann, R., 1978
Transepithelialer antikörperhaltiger Lymphfluß aus dem Lymphfalten-schwellkörper zum Ejakulat der Hahnes (*Gallus Domesticus*)
Verh. Anat. Ges. 72, 569
92. Ritzén, E., Hansson, V. and Kotite, N., 1979
Androgen Action on Spermatogenesis
Int. J. Androl., Suppl. 1, 108
93. Rivarola, A., Forest, M. and Migeon, C., 1968
Testosterone, Androstenedione and Dehydroepiandrosterone in Plasma During Pregnancy and at Delivery: Concentration and Protein Binding
J. Clin. Endocr., 28, 34
94. Rümke, P. and Hellinga, G., 1959
Antibodies Against Spermatozoa in Sterile Men
Am. J. clin. Path., 32, 357

95. Sandberg, A. A., 1977
Regulation of Plasma Steroid Binding Proteins
Endocrinology Vol. 1, (Ed.: James, V. H. T.),
Excerpta medica, Amsterdam-Oxford, 452
96. Sandler, M. and Tagliamonte, A., 1975
Role of Brain Serotonin and Dopamine in Male Sexual
Behaviour
In: Sexual Behaviour Pharmacology and Biochemistry,
(Eds.: Sandler, M. and Gessa, G.), Raven Press,
New York, 117
97. Schraner, I., Rammensee, M. and Lösch, U., 1985
Ig Concentration in Various Body Fluids of Normal
and Immunodeficient Chickens
XII. Congr. World Vet. Poultry Ass., Jerusalem
98. Sharp, F., Culbert, J. and Wells, J., 1977
Variations in Stored and Plasma Concentrations of
Androgens and Luteinising Hormone During Sexual
Development in the Cockerel
J. Endocr. 74, 467
99. Shaw, M., Georgopoulos, L. and Payne, A., 1979
Synergistic Effects of FSH and LH on Testicular Δ^5 -
3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase-Isomerase: Applica-
tion of a New Method for the Separation of Testi-
cular Compartments
Endocrinology 104, 912
100. Shulman, S., Hekman, A. and Parm, C., 1971
Antibodies to Spermatozoa II Spermagglutination
Techniques for Guinea Pigs and Human Cells
J. Reprod. Fertil., 27, 31

101. Simpson E. R., 1979
Cholesterol Side-Chain Cleavage, Cytochrome P 450
and the Control of Steroidogenesis
Mol. Cell. Endocrinol. 13, 213
102. Spooner, R., 1964
Cytolytic Activity of the Serum of Normal Male
Guinea Pigs Against Their Own Testicular Cells
Nature, 202, 915
103. Steinberger, A., Thanki, K. and Siegal, B., 1974
FSH Binding in Rat Testis During Maturation and
Following Hypophysectomy. Cellular Localization of
FSH Receptors
In: Hormone Binding and Target Cell Activation in
the Testis. Current Topics in Molecular Endo-
crinology, 1 (Eds.: Dufau, M. and Means, A.),
Plenum Press, New York, 177
104. Steinberger, A., 1980
Factors Affecting in Vitro Secretion of Inhibin by
Isolated Sertoli Cells
In: Endocrinology, (Eds.: Cumming, I., Funder, J.
and Mendelsohn, F.), The Australian Academy of
Science, Canberra, Australia, 259
105. Steinberger, A., 1981
The Sertoli Cell and Spermatogenesis
In: Oligozoospermia: Recent Progress in Andrology
(Eds.: Frajese, G., Hafez, E., Conti, C. and
Fabbrini, A.), Raven Press, New York, 35
106. Stumpf, W. and Sar, M., 1978
Estrogen Target Cells in Fetal Brain
In: Hormones and Brain Development, Developments in
Endocrinology, 3, (Eds.: Dörner, G. and Kawa-
kami, M.), Elsevier/North Holland Biomedical
Press, Amsterdam - New York - Oxford, 27

107. Tanabe, Y., Nakamura, T., Tanase, H. and Doi, O., 1979
Production and Secretion of Sex Steroid Hormones by the Testes, the Ovary and the Adrenal Glands of Embryonic and Young Chickens (*Gallus Domesticus*)
Gen. Comp. Endocrinol., 39, 26
108. Tanabe, Y., Nakamura, T., Fujioka, K. and Doi, O., 1981
Comparisons of Plasma LH, Progesterone, Testosterone and Estradiol Concentrations in Male and Female Chickens (*Gallus Domesticus*) from 28 to 1141 Days of Age.
Endocrinol. Japon., 28, 5, 605
109. Toran-Allerand, C. D., 1976
Sex Steroids and the Development of the Newborn Mouse Hypothalamus and Preoptic Area in Vitro: Implications for Sexual Differentiation
Brain Res. 106, 407
110. Verhoeven, G., 1980
Androgen Receptors in Cultured Intestinal Cells Derived from Immature Rat Testis
J. Steroid. Biochem., 13, 469
111. Viken, K., 1976
The Effect of Steroids on Adhesiveness, Rosette-forming Ability and Survival of Cultured Human Mononuclear Cells
Acta Path. Microbiol. Scand., Sect. C., 84, 5
112. Voision, G. and Toullet, F., 1968
Etude Sur L'Orchite Aspermatogenetique Autoimmune et les Autoantigenes des Spermatozoides chez le Cobaye
Annls. Inst. Pasteur, 114, 727

113. Wilson, S. C., 1978
LH Secretion in the Cockerel and the Effects of
Castration and Testosterone Injections
Gen. Comp. Endocrinol. 35, 481
114. Wilson J. A. and Glick, B., 1970
Ontogeny of Mating Behavior in the Chicken
Am. J. Physiol. 218, 951
115. Yantorno, C., Debanne, M. and Vottero-Cima, E., 1971
Autoimmune Orchitis Induced by Autoimmunization with
Seminal Plasma in the Rabbit
J. Reprod. Fertil., 27, 311

Herrn Prof. Dr. U. Lösch danke ich für die Überlassung des Themas und für seine freundliche Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Für den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz danke ich den Herren Prof. Dr. M. Merkenschlager und Prof. Dr. H. Zucker.

Mein besonderer Dank gilt all den anderen, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützten.

Lebenslauf

08.10.1958	Geboren in Bad Königshofen als Tochter von Ernst und Emma Schulz, geb. Kitzing
1964 - 1968	Besuch der Grundschule in Sternberg
1968 - 1978	Realgymnasium in Bad Königshofen
29.06.1978	Allgemeine Hochschulreife
1978 - 1983	Studium der Veterinärmedizin an der LMU München
16.03.1984	Staatsexamen
19.03.1985	Approbation

